



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

O HIV-2 COMO MODELO PARA UMA VACINA CONTRA O HIV- 1

Trabalho submetido por
Patrícia Raquel da Silva Candeias
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Professor Doutor Nuno Taveira

Outubro de 2014

Agradecimentos

A Deus;

Aos meus pais, Carmélia e Vítor, por tornarem este sonho possível e também por todo o apoio e motivação que me deram não só durante esta etapa, mas durante todo o meu percurso académico;

À minha irmã, Filipa, que sempre me incentivou e me apoiou não só, mas particularmente nestes últimos meses;

A todos os meus amigos, que me acompanharam e partilharam toda esta etapa comigo, principalmente: Inês Figueiredo, Margarida Esteves e Inês Martins;

Por último, um especial agradecimento ao Professor Doutor Nuno Taveira por todas as orientações e críticas construtivas ao longo da realização desta monografia.

Resumo

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) é causada por dois lentivírus, HIV-1 e HIV-2. O HIV-1 é mais prevalente do que o HIV-2 e é responsável por pandemias. Por sua vez, o HIV-2 é responsável por epidemias localizadas em determinadas regiões do globo.

Apesar das várias estratégias que têm sido desenvolvidas ao longo dos últimos anos, ainda não se conseguiu obter uma vacina segura e eficaz contra o HIV-1. Vários ensaios clínicos já foram realizados mas apenas um, RV144, obteve uma eficácia parcial de 31.2%.

O HIV-2 tem demonstrado em vários estudos uma eficácia protetora contra a infecção por HIV-1 e, como tal, tem sido utilizado como modelo de estudo para o desenvolvimento de uma vacina contra o HIV-1. Por outro lado, as similaridades existentes entre o HIV-1 e o HIV-2, se forem devidamente exploradas, podem constituir uma abordagem para o desenvolvimento de uma vacina que pode, eventualmente, atuar contra o HIV-1.

Para além disso, a criação de estratégias baseadas em ferramentas bioinformáticas, servidores *web* e *softwares* podem poupar muito tempo e recursos, ajudando na conceção de uma vacina eficaz contra o HIV-1.

Palavras-chave: Vírus da imunodeficiência humana do tipo 2 (HIV-2); Modelo; Vacina; Vírus da imunodeficiência humana do tipo 1 (HIV-1).

Abstract

Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) is caused by two lentiviruses, HIV-1 and HIV-2. HIV-1 is more prevalent than HIV-2 and is responsible for pandemics. In turn, HIV-2 is responsible for localized epidemics in some regions of the globe.

Despite the various strategies that have been developed over the past few years, has not yet managed to get a safe and effective vaccine against HIV-1. Several clinical studies have already been carried out but only one, RV144, obtained the partial effectiveness of 31.2%.

HIV-2 has been shown in several studies protective efficacy against infection by HIV-1 and, as such, has been used as a model to study the development of a vaccine against HIV-1. On the other hand, the similarities that exist between HIV-1 and HIV-2, if properly exploited, can constitute an approach to the development of a vaccine that could eventually act against HIV-1.

In addition, the creation of strategies based on bioinformatics, web servers and softwares can save a lot of time and resources, helping in the design of an effective vaccine against HIV-1.

Keywords: Human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2); Model; Vaccine; Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1).

Índice Geral

Agradecimentos	3
Resumo	5
Abstract.....	6
Índice de Figuras:	9
Índice de Tabelas:	10
Lista de Abreviaturas.....	11
1. Introdução.....	13
2.1. Diversidade genética do HIV	15
2.2. Estrutura do HIV	16
2.2.1. Estrutura da partícula vírica do HIV	16
2.2.2. Estrutura genómica do HIV	17
2.3. Ciclo biológico do HIV	20
2.4. História natural da infeção por HIV	22
2.4.1. História natural da infeção por HIV-1	23
2.4.2. História natural da infeção por HIV-2	25
2.4.3. Respostas imunitárias induzidas pela infeção por HIV	33
2.4.3.1. Comparação das respostas imunitárias induzidas pelas infeções por HIV-1 e por HIV-2	37
2.5. Epidemiologia da infeção por HIV	40
3. Desenvolvimento de vacinas contra o HIV-1	43
3.1. Vacinas de subunidades proteicas.....	45
3.2. Vacinas com vetores virais	46
3.3. Vacinas com subunidades proteicas e vetores virais	48
3.4. Vacinas de ADN	48
4. O HIV-2 como modelo para uma vacina contra o HIV-1	51

5. Estudos que avaliam a capacidade protetora do HIV-2 contra a infecção por HIV-1.....	57
5.1.1. O HIV-2 protege contra a infecção por HIV-1?.....	57
5.1.2. Inibição da progressão da doença por HIV-1 pela infecção contemporânea por HIV-2	58
5.1.3. Superinfecção pelo HIV-1 numa mulher infetada com o HIV-2 com subsequente controlo da virémia plasmática do HIV-1	59
5.1.4. Taxas de mortalidade em pessoas duplamente infetadas com o HIV-1/2 e em pessoas infetadas com o HIV-1 ou com o HIV-2: uma revisão sistemática e meta-análise.....	62
6. Estratégias que utilizam o HIV-2 como modelo para uma vacina contra o HIV-1	65
7. Conclusão.....	69
Bibliografia.....	73

Índice de Figuras:

Figura 1: Estrutura do HIV-1.....	17
Figura 2: Esquema das estruturas genómicas do HIV-1 e do HIV-2.....	18
Figura 3: Ciclo biológico do HIV.....	22
Figura 4: História natural da infeção por HIV.....	23
Figura 5: Prevalência mundial da infeção por HIV.....	41
Figura 6: Aplicação de ferramentas bioinformáticas na previsão de uma vacina contra o HIV-2.....	65

Índice de Tabelas:

Tabela 1: Características que distinguem a infecção por HIV-2 da infecção por HIV-1.....	33
Tabela 2: Diferentes ensaios clínicos realizados com vacinas contra o HIV-1.....	49

Lista de Abreviaturas

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

ARN – Ácido Ribonucleico

ARNm – Ácido Ribonucleico mensageiro

bNAbs - *Broadly Neutralizing Antibodies*

CA – Cápside

cADN – Ácido Desoxirribonucleico complementar

CRF - *Circulating Recombinant Forms*

DCs - *Dendritic Cells*

DST – Doenças Sexualmente Transmissíveis

FDA – *Food and Drug Administration*

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

ICTV - *International Committee on Taxonomy of Viruses*

IgA – Imunoglobulina A

IgG – Imunoglobulina G

IN – Integrase

KIRs - *Killer Cell Immunoglobulin-like Receptors*

LGP - Linfadenopatias Generalizadas Persistentes

LPS - Lipopolissacárido

LTR - *Long Terminal Repeats*

MA – Matriz

MDMs - Monócitos Derivados dos Macrófagos

NAbs – *Neutralizing Antibodies*

NC – Nucleocápside

NK – Células *Natural Killer*

OIT – Organização Internacional do Trabalho

OMS – Organização Mundial da Saúde

PAMPs - *Pathogen-Associated Molecular Patterns*)

PBMCs - *Peripheral Blood Mononuclear Cells*

PR – Protease

PRRs - *Pattern Recognition Receptors*

RE - Retículo Endoplasmático

SIV – Vírus da Imunodeficiência dos Símios

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SU – Glicoproteína de Superfície

suPAR - Forma Solúvel no Plasma do Recetor do Ativador de Plasminogénio do tipo Urocinase

TARV – Terapêutica Antirretrovírica

TLRs – *Toll-like Receptors*

TM – Glicoproteína Transmembranar

TR – Transcriptase Reversa

UNAIDS – *Joint United Nations Program on HIV/AIDS*

URF - *Unique Recombinant Forms*

1. Introdução

O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), pertencente à família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae* e ao género dos Lentivírus, é o agente causador da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) (Borrego & Taveira, 2013; FDA, 2014; ICTV, 2013). O HIV pode classificar-se em dois tipos, HIV-1 e HIV-2, que resultam de infeções zoonóticas entre espécies de macacos e o homem (Borrego & Taveira, 2013; Peeters, D'Arc, & Delaporte, 2014; Sharp & Hahn, 2011).

A transmissão do HIV processa-se mediante o contacto com líquidos orgânicos de indivíduos infetados e pode efetuar-se por três vias: sexual, sanguínea e vertical (Lewthwaite & Wilkins, 2009; Mcconville, Boyd, & Major, 2014; Paixão & Pádua, 2011). Contudo, a via de transmissão que predomina tanto no HIV-1 como no HIV-2 é a via sexual (Paixão & Pádua, 2011).

Os dois tipos de HIV apresentam distribuições geográficas distintas. Enquanto o HIV-1 se distribui por todo o mundo causando pandemias, o HIV-2 origina epidemias centradas em algumas regiões do globo, essencialmente na África Ocidental (Borrego & Taveira, 2013; Diwan, Saxena, & Tiwari, 2013; Gottlieb, 2013). Até ao término do ano de 2013, estima-se que existiam cerca de 35 milhões de pessoas a viver com o HIV-1 e que, atualmente, a infeção por HIV-2 afeta entre 1 a 2 milhões de pessoas. Para além disso, verificou-se que a SIDA foi responsável por, aproximadamente, 1.5 milhões de mortes em 2013 (Diwan et al., 2013; Gottlieb, 2013; UNAIDS, 2014a).

Com o intuito de diminuir a morbilidade e a mortalidade dos indivíduos infetados com o HIV-1 tem sido instituída a terapêutica antirretrovírica (TARV) altamente ativa. Esta abordagem tem-se revelado bastante eficaz no aumento da esperança de vida destes indivíduos devido ao facto de retardar a progressão da doença. No entanto, apesar de retardar a progressão da doença, não a consegue evitar surgindo, assim, a necessidade de desenvolver outra estratégia que permita, de certa forma, travar esta doença (Caoili, 2014; Steckbeck, Kuhlmann, & Montelaro, 2013; Voronin & Phogat, 2010).

As vacinas têm sido a abordagem mais segura, eficaz e económica no que diz respeito à prevenção e erradicação de doenças infecciosas (Lema, Garcia, & De Sanctis, 2014). Todavia, atualmente ainda não existe nenhuma vacina eficaz contra o HIV-1 (Diwan et al., 2013; Ringe & Bhattacharya, 2013).

O facto da infeção por HIV-2 apresentar inúmeras características que a distinguem da infeção por HIV-1, tais como uma progressão para SIDA mais lenta, uma menor transmissibilidade, uma menor patogenicidade, entre muitas outras, tem contribuído para que o HIV-2 seja utilizado como modelo de estudo no que diz respeito aos mecanismos que controlam a infeção. Deste modo, a sua melhor compreensão pode permitir o desenvolvimento de novas estratégias, como por exemplo uma vacina, para a prevenção e tratamento da infeção por HIV-1 (Borrego & Taveira, 2013; Diwan et al., 2013; Duvall et al., 2009; Yindom et al., 2010).

O objetivo deste trabalho prende-se na revisão da literatura existente acerca da utilização do HIV-2 como modelo para uma vacina contra o HIV-1.

2. Vírus da Imunodeficiência Humana e Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) é o agente que provoca a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) (Azevedo-Pereira, 2011; Borrego & Taveira, 2013; FDA, 2014; Ministério da Saúde, 2012; OMS & OIT, 2008).

A SIDA, por sua vez, define-se como uma síndrome não hereditária causada pelo HIV que se manifesta por uma série de infeções e cancros oportunistas (Ministério da Saúde, 2012; OMS & OIT, 2008).

De acordo com o *International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV), o HIV pertence à família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae* e ao género dos Lentivírus (ICTV, 2013). Assim sendo, tal como todos os membros que constituem a família *Retroviridae*, este vírus é muitas vezes designado por retrovírus (Azevedo-Pereira, 2011).

O HIV pode classificar-se em dois tipos: tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2) (Azevedo-Pereira, 2011; ICTV, 2013). Ambos resultam de transmissões cruzadas do Vírus da Imunodeficiência dos Símios (SIV) entre espécies de macacos e o homem - infeções zoonóticas. O HIV-1 é similar ao SIV dos chimpanzés e gorilas e o HIV-2 assemelha-se ao SIV da espécie *Cercocebus atys* (Borrego & Taveira, 2013; Peeters et al., 2014; Taveira & Ferreira, 2011).

No entanto, é importante salientar que apesar de apresentarem semelhanças em múltiplos aspetos, os dois tipos de HIV partilham apenas 40-50% de homologia genética (Taveira, Borrego, & Bártolo, 2011; Taveira & Ferreira, 2011).

2.1. Diversidade genética do HIV

A acumulação sucessiva de mutações, durante os processos de transcrição reversa e recombinação, faz com que o HIV apresente uma grande variabilidade genética (Azevedo-Pereira, 2011; Peeters et al., 2014; Taveira & Ferreira, 2011).

O HIV-1 pode ser classificado, de acordo com a análise filogenética de sequências isoladas em todo o mundo, em quatro grupos filogenéticos bastante divergentes: M, N, O

e P. O grupo M é o que tem maior relevância devido ao facto de ser o mais prevalente a nível mundial e de ser, por isso, o único grupo pandémico. Assim, o grupo M subdivide-se em nove subtipos distintos (A, B, C, D, F, G, H, K e J), em seis subsubtipos (A1-A4 e F1-F2), em múltiplas formas recombinantes circulantes (CRF de *circulating recombinant forms*) e em numerosas formas únicas recombinantes (URF de *unique recombinant forms*) (Bîçeroğlu, Altuğlu, Zeka, & Gökengîn, 2014; Borrego & Taveira, 2013; Martins, 2011; Peeters et al., 2014; Taveira & Ferreira, 2011).

O HIV-2, por sua vez, é atualmente classificado em nove grupos genéticos distintos (A- I) (Peeters et al., 2014). Apenas os grupos A e B provocam epidemias e, o grupo A é muito mais prevalente do que o B (Borrego & Taveira, 2013; Martins, 2011; Peeters et al., 2014; Taveira & Ferreira, 2011).

2.2. Estrutura do HIV

Os dois tipos de HIV são morfológica e estruturalmente semelhantes contudo, existem aspetos estruturais que os distinguem, tanto a nível da partícula vírica como a nível do genoma (Azevedo-Pereira, 2011).

2.2.1. Estrutura da partícula vírica do HIV

As partículas víricas do HIV-1 e do HIV-2 são muito semelhantes quer na sua morfologia, quer na sua composição. Ambas possuem uma morfologia esférica que pode variar entre 100 e 110 nm de diâmetro (Azevedo-Pereira, 2011).

Nos dois tipos de HIV, a partícula vírica é constituída (do seu exterior para o interior) por um invólucro de carácter lipídico (bicamada lipídica); por uma matriz (MA); por uma cápside (CA) e por uma nucleocápside (NC), ambas com formato cónico; pelo material genético (duas moléculas de ARN de polaridade positiva) e, por último, pelas enzimas transcriptase reversa (TR), integrase (IN) e protease (PR) (Figura 1) (Azevedo-Pereira, 2011; Steckbeck et al., 2013; Taveira et al., 2011). Todavia, algumas das proteínas víricas presentes nas estruturas referidas anteriormente variam de acordo com o tipo de HIV (Borrego & Taveira, 2013).

A principal diferença entre o HIV-1 e o HIV-2 reside nas proteínas codificadas pelos genes acessórios *vpu* e *vpx*. O gene *vpu*, presente apenas no HIV-1, codifica para a proteína Vpu. O gene *vpx*, que se encontra exclusivamente no HIV-2, codifica para a proteína Vpx. Estas duas proteínas acessórias são consideradas proteínas de regulação tardia bastante importantes tanto na infecciosidade como na eficiência de replicação do vírus (Azevedo-Pereira, 2011; Miyake, Miyazaki, Fujita, Nomaguchi, & Adachi, 2014; Nomaguchi et al., 2012; Pickering et al., 2014).

Para além disso, existem diferenças nas proteínas que constituem o invólucro de cada tipo de HIV. Ambos os invólucros são constituídos por dois tipos de proteínas, as de superfície (SU) e as transmembranares (TM). No HIV-1 o invólucro apresenta a glicoproteína SU gp120 e a glicoproteína TM gp41 (Azevedo-Pereira, 2011; Borrego & Taveira, 2013; Steckbeck et al., 2013; Uchtenhagen et al., 2011). Pelo contrário, o invólucro do HIV-2 possui a gp125 como glicoproteína SU e a gp36 como glicoproteína TM (Borrego & Taveira, 2013; Uchtenhagen et al., 2011).

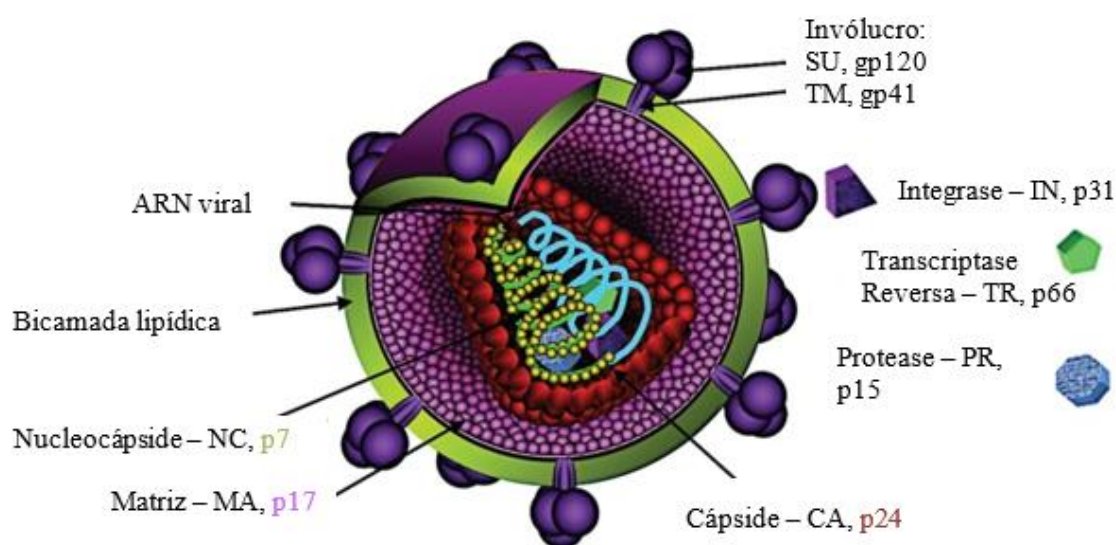


Figura 1: Estrutura do HIV-1. Adaptado de Steckbeck et al. (2013).

2.2.2. Estrutura genómica do HIV

O HIV-1 e o HIV-2 apresentam, tal como descrito anteriormente, uma similaridade genómica que está na ordem dos 40-50% (Diwan et al., 2013; Taveira et al.,

2011; Taveira & Ferreira, 2011). Ambos possuem um genoma que é constituído por duas moléculas idênticas de ARN de polaridade positiva (ARNm), cada uma com aproximadamente 9 500 pares de bases (Azevedo-Pereira, 2011; Taveira et al., 2011). No entanto, existem algumas diferenças que, apesar de ligeiras, têm um grande impacto nas características evidenciadas pelas duas espécies de HIV (Azevedo-Pereira, 2011; Diwan et al., 2013; Taveira et al., 2011).

De uma forma geral, o genoma do HIV é composto por três genes estruturais, dois genes reguladores e por quatro genes acessórios. No caso do HIV-1, os genes estruturais são os genes *env*, *gag* e *pol*, os genes reguladores são os genes *tat* e *rev* e os genes acessórios são os genes *nef*, *vif*, *vpr* e *vpu*. Relativamente ao HIV-2, existe apenas uma alteração num dos genes acessórios, ou seja, o gene *vpx* que está presente no tipo 2 substitui o gene *vpu* do HIV-1. Por último, nas extremidades 5' e 3' de ambos encontram-se as sequências repetitivas terminais longas (LTR de *long terminal repeats*) (Figura 2) (Azevedo-Pereira, 2011; Diwan et al., 2013; Nomaguchi et al., 2012; Taveira et al., 2011).

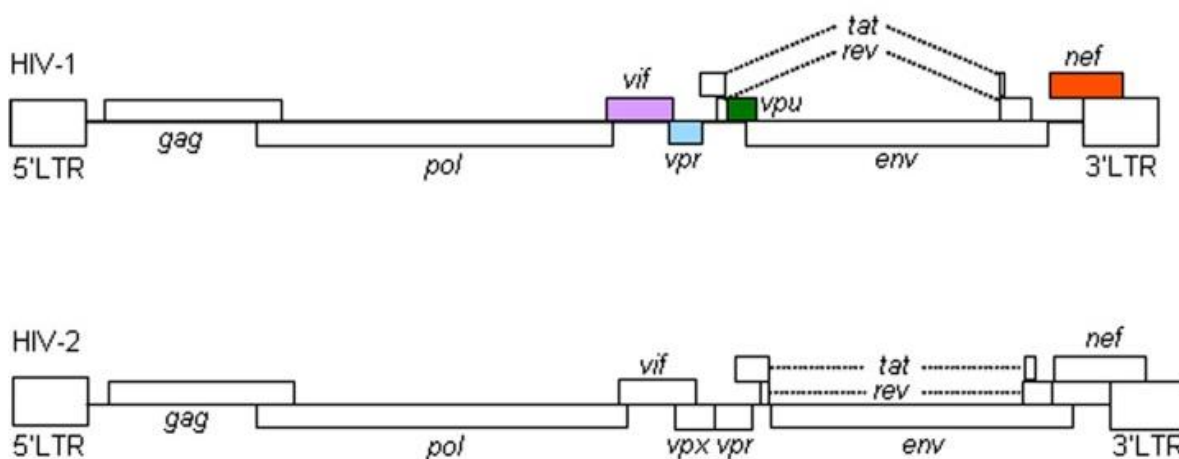


Figura 2: Esquema das estruturas genômicas do HIV-1 e do HIV-2. Adaptado de Nomaguchi et al., (2012).

Os genes estruturais - *env*, *gag* e *pol* – codificam, tal como o nome indica, para a maioria das estruturas que constituem a partícula viral e são comuns a todos os retrovírus (Azevedo-Pereira, 2011; Nomaguchi et al., 2012).

O gene *env* codifica para um polipéptido precursor que, após ação enzimática, dá origem às glicoproteínas de superfície (SU) e transmembranar (TM). Estas glicoproteínas vão ligar-se, através de uma ligação não covalente, e vão formar o invólucro da partícula

viral. (Azevedo-Pereira, 2011; Borrego & Taveira, 2013; Steckbeck et al., 2013; Taveira et al., 2011; Uchtenhagen et al., 2011).

O gene *gag* contém informação que também codifica para uma proteína precursora e que, após ser processada pela enzima protease (PR), dá origem às proteínas da matriz (MA), cápside (CA) e nucleocápside (NC). No HIV-1 a proteína precursora é a p55, a proteína da matriz é a p17, a da cápside é a p24 e, por fim, a da nucleocápside é a p7 (Azevedo-Pereira, 2011; Diwan et al., 2013; Taveira et al., 2011). No entanto, é de salientar que as proteínas do HIV-2 possuem pesos moleculares diferentes daqueles que foram acima descritos para o HIV-1 (Azevedo-Pereira, 2011).

O gene *pol* codifica para a proteína precursora que conduz à formação das enzimas transcriptase reversa (TR), protease (PR) e integrase (IN). Os pesos moleculares destas enzimas variam consoante o tipo de HIV (Azevedo-Pereira, 2011; Diwan et al., 2013; Taveira et al., 2011).

Por sua vez, os genes reguladores *tat* e *rev*, que controlam a expressão génica precoce, codificam para proteínas reguladoras que intervêm na ativação da transcrição e na regulação da expressão do ARNm do vírus (Azevedo-Pereira, 2011).

Em oposição ao que acontece com os genes estruturais, que são comuns a todos os retrovírus, existem vários genes acessórios do HIV e do SIV que não existem nos restantes retrovírus. O gene *nef* desempenha funções ao nível da replicação vírica e, tal como os genes reguladores *tat* e *rev*, participa no controlo precoce da expressão génica. Os genes *vif* e *vpr* codificam para proteínas acessórias com importantes funções tanto na infecciosidade como na eficiência de replicação do HIV. Por último, os dois genes acessórios que diferem no tipo 1 e no tipo 2 do HIV, *vpu* e *vpx* respetivamente, são igualmente fundamentais na replicação ótima do vírus e na manutenção do vírus nos indivíduos infetados (Azevedo-Pereira, 2011; Miyake et al., 2014; Pickering et al., 2014).

A proteína Vpu, codificada pelo gene *vpu* existente no HIV-1, tem sido recentemente associada ao estabelecimento da infeção pandémica pelo grupo M do HIV-1 após a sua introdução na população humana. A sua expressão dá-se apenas na fase final do ciclo de replicação, com a finalidade de facilitar a saída eficaz das partículas infecciosas através da degradação dos recetores CD4 no retículo endoplasmático (RE) e da

neutralização da proteína teterina, impedindo a fixação dos novos viriões à superfície das células infectadas. (Pickering et al., 2014; Taveira et al., 2011).

Paralelamente, a proteína Vpx, codificada pelo gene vpx, apresenta uma elevada homologia com a proteína Vpr do HIV-1 e é essencial para a replicação do HIV-2 nos linfócitos do sangue periférico (Miyake et al., 2014; Taveira et al., 2011).

Estudos realizados *in vitro* demonstraram que os genes acessórios não são essenciais para a replicação do vírus em algumas linhagens de células de cultura de tecidos. Por outro lado, estudos *in vivo* demonstraram que as proteínas codificadas por estes genes são fulcrais para a transmissão e para a permanência do vírus nos indivíduos infectados (Pickering et al., 2014).

2.3. Ciclo biológico do HIV

Como agente patogénico intracelular, o HIV necessita da maquinaria genética da célula hospedeira para infectar e para se replicar (Jakobsen, Mogensen, & Paludan, 2013; Tyagi & Kashanchi, 2012).

O primeiro passo do ciclo de replicação do HIV consiste na ligação do vírus ao recetor CD4, principal recetor que se encontra na membrana citoplasmática das células da glia e de determinadas células do sistema imunitário (linfócitos T, monócitos, macrófagos e células dendríticas) (Azevedo-Pereira, 2011; Marsden & Zack, 2014; Mcconville et al., 2014; Tan et al., 2010; Yan & Lieberman, 2011). Deste modo, tanto no HIV-1 como no HIV-2, a ligação à célula-alvo processa-se mediante a interação entre a glicoproteína SU presente no invólucro viral (gp120 no HIV-1 e gp125 no HIV-2) e o recetor CD4 (Azevedo-Pereira, 2011; Mcconville et al., 2014; Steckbeck et al., 2013; Yan & Lieberman, 2011). Contudo, esta interação, por si só, não é suficiente para que o vírus entre na célula existindo, por isso, outras moléculas na membrana citoplasmática da célula-alvo (recetores das quimiocinas) que atuam como co-recetores e que permitem, desta forma, a fusão do vírus com a membrana celular e a sua entrada na célula hospedeira. Os recetores das quimiocinas que apresentam maior relevância são, em ambos os tipos de HIV, o CCR5 e o CXCR4 (Azevedo-Pereira, 2011; Borrego & Taveira, 2013; Marsden & Zack, 2014; Mcconville et al., 2014; Steckbeck et al., 2013; Tan et al., 2010; Yan & Lieberman, 2011). Contudo, resultados de estudos cinéticos revelam que as

alterações conformacionais induzidas pelo recetor CD4 variam de acordo com o tipo de HIV. Ou seja, estes estudos mostram que a fusão mediada pelo gene *env* é mais rápida no HIV-2 e que o local de ligação ao co-recetor, após ligação ao recetor CD4, é exposto mais rapidamente no HIV do tipo 2 (Borrego & Taveira, 2013).

Depois de entrar na célula hospedeira, a partícula vírica é submetida a um processo de descapsidação. Posteriormente, dá-se a ativação da enzima transcriptase reversa (TR) e o início da síntese do ADN complementar (cADN) de cadeia dupla a partir das cadeias simples do ARN vírico. O passo que se segue tem por base a formação do ADN provírico, ou seja, o ADN sintetizado é transportado para o interior do núcleo da célula hospedeira e a enzima integrase (IN) conduz o processo de integração do ADN vírico no ADN da célula. Seguidamente, e ainda no núcleo, ocorre a transcrição do ADN provírico em três tipos de ARNm. Esses ARNm vão sofrer tradução, já no exterior do núcleo da célula hospedeira, e codificar para as proteínas que permitem a formação da nova partícula vírica (Azevedo-Pereira, 2011; Marsden & Zack, 2014; Mcconville et al., 2014; Tan et al., 2010; Trinité et al., 2013).

Por último, a nova partícula vírica que apresenta capacidade para infetar novas células forma-se ao nível da membrana plasmática e sai da célula hospedeira por gemulação (Figura 3) (Azevedo-Pereira, 2011; Marsden & Zack, 2014; Mcconville et al., 2014; Tan et al., 2010).

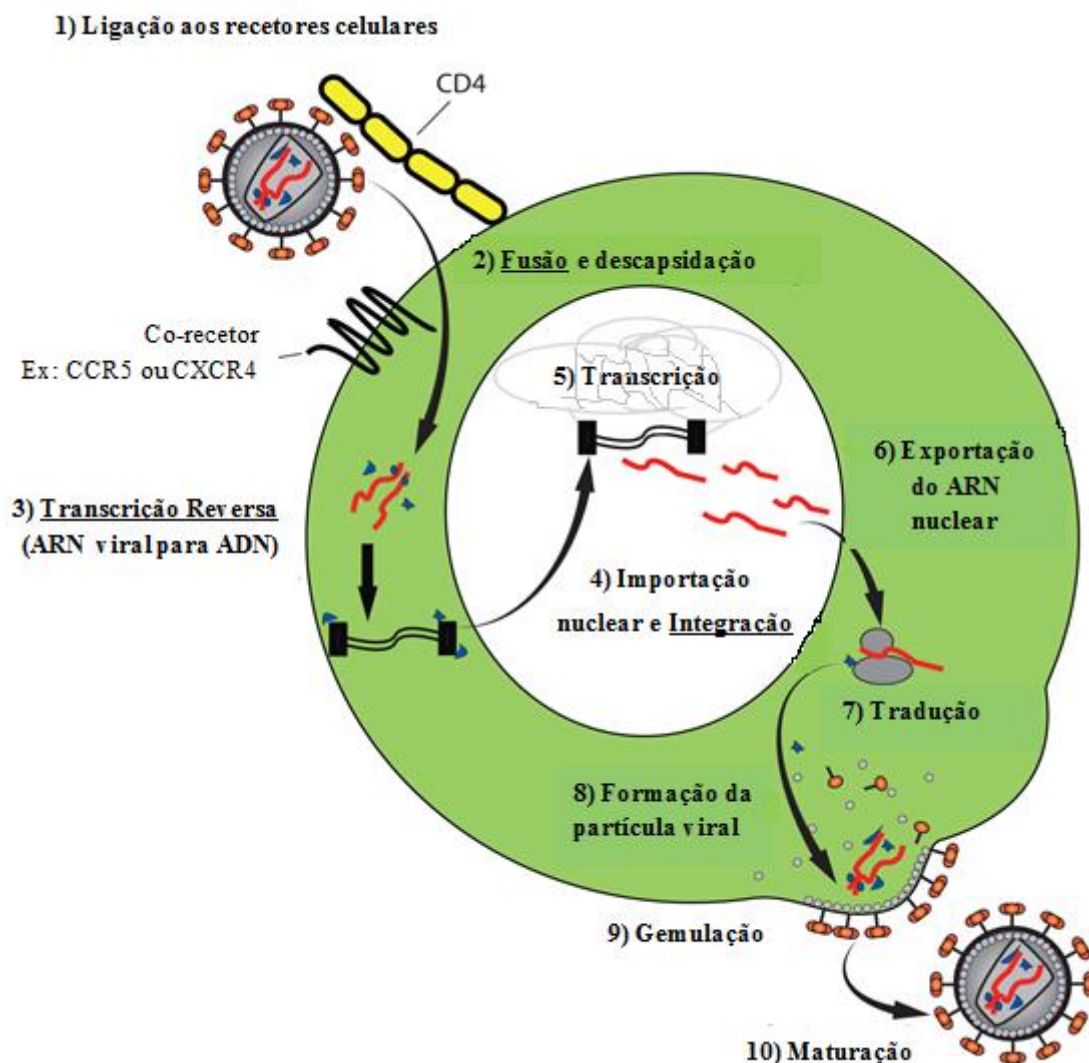


Figura 3: Ciclo biológico do HIV. Adaptado de Marsden & Zack (2014).

2.4. História natural da infecção por HIV

A transmissão do HIV pode efetuar-se por via sexual, sanguínea ou de mãe para filho - transmissão vertical - através do contacto com líquidos orgânicos de indivíduos infetados (sangue, sémen e secreções vaginais) (Lewthwaite & Wilkins, 2009; Mcconville et al., 2014; Paixão & Pádua, 2011). Globalmente, a via de transmissão que predomina no HIV-1 é a via sexual e o HIV-2 é transmitido, praticamente, apenas por via sexual (Paixão & Pádua, 2011). Na infecção por HIV-1, tem sido reportado que a transmissão mulher-homem é menos eficiente do que a transmissão homem-mulher (Boily et al., 2009; Yindom et al., 2010). Assim, apesar de existirem vias de transmissão

distintas e, por isso, mecanismos diferentes de infecção inicial, as manifestações da doença não parecem diferir entre os indivíduos que foram infectados através das mucosas e os que foram infectados através do sangue (Espada de Sousa & Victorino, 2011).

2.4.1. História natural da infecção por HIV-1

A história natural da infecção por HIV-1 apresenta uma progressão relativamente lenta, podendo levar cerca de dez anos a evoluir de uma fase assintomática até à Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) (Marsden & Zack, 2014; Valadas, 2011). No entanto, o tempo médio para que se dê essa evolução ultrapassa, atualmente, os 10 anos devido à realização de terapêutica antirretrovírica (TARV) e à profilaxia de infecções oportunistas (Valadas, 2011).

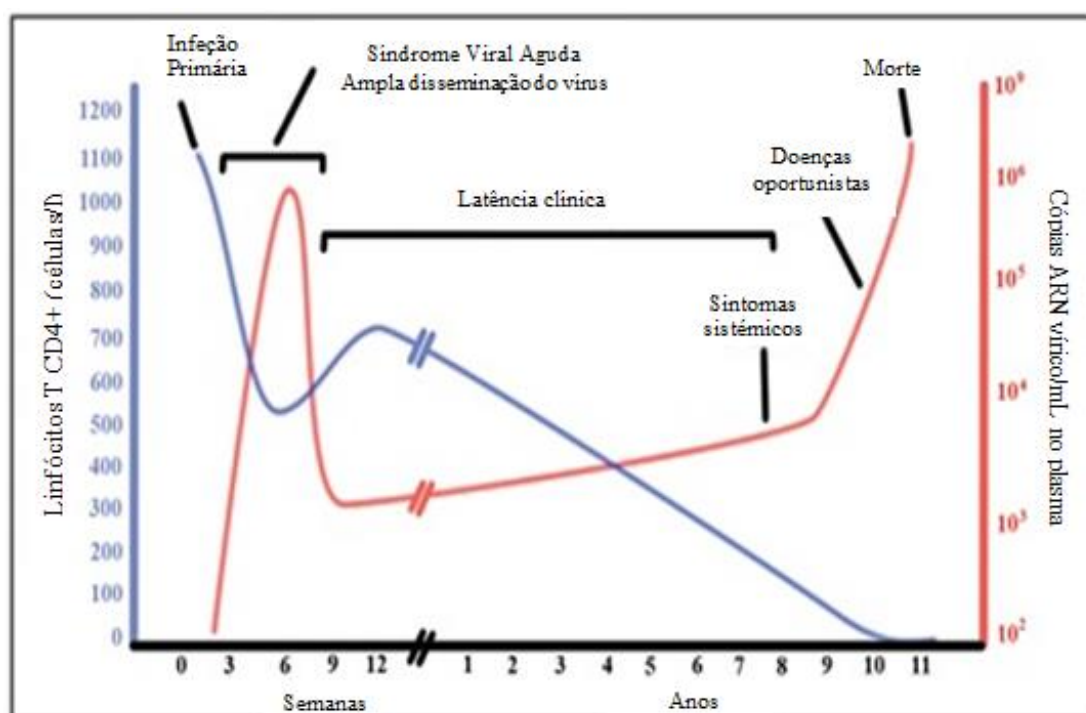


Figura 4: História natural da infecção por HIV. Adaptado de Naif (2013).

A infecção primária aguda inicia-se a partir do momento em que ocorre a transmissão do HIV apresentando, este vírus, um período de incubação que ronda, em média, as três semanas. No período que decorre entre as três e as seis semanas após a infecção primária, surge a Síndrome Viral Aguda (SVA) que se caracteriza pela ampla

replicação e disseminação do vírus e, cujos sintomas são semelhantes à mononucleose infecciosa (Espada de Sousa & Victorino, 2011; Mogensen, Melchjorsen, Larsen, & Paludan, 2010; Valadas, 2011).

Paralelamente à replicação do vírus e ao consequente aumento da virémia, existe um decréscimo nos níveis dos linfócitos T CD4+, T CD8+ e dos linfócitos B. Todavia, a forte resposta imunitária (humoral e celular) leva à diminuição da carga viral, ao aumento dos linfócitos T CD8+ para níveis iguais ou superiores aos que existiam antes da infeção e, ainda, à recuperação parcial dos linfócitos T CD4+. Desta forma, atinge-se o equilíbrio entre o sistema imunitário e o vírus após, aproximadamente, três semanas desde o início da SVA (Espada de Sousa & Victorino, 2011; Mogensen et al., 2010; Valadas, 2011).

O sistema imunitário consegue eliminar eficazmente as células infetadas mas é incapaz de eliminar a infeção devido ao facto de existirem reservatórios víricos (células T, macrófagos e viriões retidos pelas células dendríticas). Estes reservatórios possuem o ADN provírico mas não expressam as proteínas víricas, pelo que conseguem escapar à ação do sistema imunitário e persistir no organismo (Espada de Sousa & Victorino, 2011; Marsden & Zack, 2014; Mogensen et al., 2010).

Durante a fase aguda da infeção os anticorpos contra o HIV-1 ainda não se formaram por isso, o diagnóstico é apenas conseguido através da quantificação do ARN vírico no plasma ou da antigenemia *gag*. As manifestações clínicas nesta fase são inespecíficas (febre, mialgias, faringite, vômitos, infeções virais e bacterianas, entre outras) pelo que se torna extremamente difícil o diagnóstico precoce (Espada de Sousa & Victorino, 2011; Mogensen et al., 2010; Valadas, 2011).

Depois da fase aguda da infeção, inicia-se um período de latência clínica que se caracteriza por uma infeção crónica assintomática e que tem uma duração variável entre os indivíduos infetados. Em média, o período de latência clínica dura entre oito e dez anos (sem instituição de TARV), assistindo-se durante este tempo ao agravamento do estado do sistema imunitário como consequência do aumento da replicação viral. É possível que durante esta fase os indivíduos infetados desenvolvam linfadenopatias generalizadas persistentes (LGP) (Espada de Sousa & Victorino, 2011; Lewthwaite & Wilkins, 2009; Mogensen et al., 2010; Valadas, 2011).

O período que se segue à fase de latência clínica caracteriza-se pelo elevado estado de imunodeficiência do sistema imunitário, o que leva ao aparecimento de infeções e neoplasias oportunistas que, se não forem tratadas, podem ser fatais. Esta fase é conhecida por Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) e corresponde a contagens de linfócitos T CD4⁺ iguais ou inferiores a 200 células/ μ L (Diwan et al., 2013; Espada de Sousa & Victorino, 2011; Lewthwaite & Wilkins, 2009; Marsden & Zack, 2014; Mogensen et al., 2010; Nowroozalizadeh et al., 2010; Valadas, 2011).

2.4.2. História natural da infeção por HIV-2

Apesar dos dois tipos de HIV serem biologicamente semelhantes e de conduzirem ambos à SIDA, a infeção por HIV-2 apresenta uma fase assintomática bem mais longa e uma progressão para SIDA mais lenta do que a infeção por HIV-1 (Blaak, van der Ende, Boers, Schuitemaker, & Osterhaus, 2006; Borrego & Taveira, 2013; Campbell-Yesufu & Gandhi, 2011; Diwan et al., 2013; Gomes, 2003; MacNeil et al., 2007; Popper et al., 1999; Soares et al., 2006; Uchtenhagen et al., 2011).

De acordo com um estudo realizado no Senegal em 131 mulheres, o tempo que decorre desde o contágio até à SIDA é bastante superior na infeção por HIV-2. Neste estudo verificou-se que, após cinco anos, apenas 67% das mulheres infetadas com o HIV-1 não tinham progredido para SIDA, ao invés das mulheres infetadas com o HIV-2 que se apresentavam na sua totalidade sem SIDA (Campbell-Yesufu & Gandhi, 2011; Gomes, 2003). Foi, também, publicado um trabalho no ano de 1999 em que, um indivíduo em estudo, que estava infetado com o HIV-2, apresentava um período de incubação superior a 30 anos (Miranda, 1999). Para além disso, foram encontrados indivíduos assintomáticos infetados há mais de 20 anos com o HIV-2 (Gomes, 2003; Tendeiro et al., 2013).

Relativamente à patogenicidade e transmissibilidade, o HIV-2 é menos patogénico e menos transmissível do que o HIV-1. Tal como referido anteriormente, o HIV-2 apresenta uma frequência de transmissão vertical e parentérica quase nula e, para além disso, uma frequência de transmissão por via sexual bastante mais baixa do que o HIV-1 (Borrego & Taveira, 2013; Diwan et al., 2013; Nowroozalizadeh et al., 2010; Paixão & Pádua, 2011; Sousa, Carneiro, Meier-Schellersheim, Grossman, & Victorino, 2002; Uchtenhagen et al., 2011).

Um estudo, desenvolvido em comunidades rurais e urbanas da Guiné-Bissau, demonstrou que o HIV-2 é muito menos patogénico do que o HIV-1 na medida em que o risco relativo de morte devido à infeção por HIV-2 varia apenas entre 2.0 e 3.5, em contraste com o risco relativo de morte de 10.0 para a infeção por HIV-1 (Donovan, Ariyoshi, Milligan, & Ota, 2000).

Com o intuito de avaliar a patogenicidade do HIV-2 nas células foi realizado um estudo com células do tecido linfoide humano (Schramm et al., 2000). O HIV-2 pode utilizar o recetor CCR5 e/ou o recetor CXCR4 mas pode, também, utilizar outros recetores *in vitro* (BOB, Bonzo, entre outros) (Schramm et al., 2000; Shi et al., 2005). A estirpe de HIV-2 é que vai determinar qual ou quais os recetores que vão ser utilizados. Este estudo revelou a existência de uma correlação entre a especificidade para determinado recetor e a atividade citopática das estirpes de HIV-2 em células do tecido linfoide humano. Um isolado provocou a diminuição muito lenta das células T CD4+ nas culturas infetadas, enquanto outro isolado levou à perda bastante rápida das células T CD4+. Estes resultados revelam que a especificidade para determinado recetor influencia significativamente o potencial citopático do HIV-2 no tecido linfoide e que, apesar de existirem estirpes com baixo potencial citopático, existem outras tão patogénicas como o HIV-1. Neste estudo também foi possível verificar que a especificidade para um dado recetor determina qual a população de células T CD4+ que vai ser alvo de diminuição no tecido linfoide. A maioria das células T CD4+ deste estudo expressava o recetor CXCR4 (cerca de 88.5%) enquanto apenas, aproximadamente, 10.4% expressava o recetor CCR5. Assim, observou-se que as estirpes R5 do HIV-2 (que apresentam especificidade para o recetor CCR5) são altamente patogénicas para as células T CD4+ portadoras do recetor CCR5 e que as estirpes X4 (que apresentam especificidade para o recetor CXCR4) se revelaram muito patogénicas para as células T CD4+ que expressam o recetor CXCR4 (88.5% das células). Deste modo, a expressão diferencial dos recetores CXCR4 e CCR5 nos tecidos linfoides é crucial para o diferente comportamento das estirpes R5 e X4 do HIV-2 (Schramm et al., 2000).

Por sua vez, um estudo realizado na Costa do Marfim mostrou que, das mulheres infetadas com o HIV-2, apenas 5% tinham vírus detetável nas secreções vaginais enquanto se observava 24% para as mulheres infetadas pelo HIV-1. Estas conclusões podem, de certa forma, explicar as diferenças que existem na transmissão de ambos os

tipos de HIV (Ghys et al., 1997; Gomes, 2003). Por outro lado, modelos matemáticos sugerem que, no HIV-2, a probabilidade de transmissão por contacto sexual é entre cinco a nove vezes mais baixa do que no HIV-1. Em relação à transmissão parentérica, até dezembro de 2001, as transfusões sanguíneas representavam 16% das infeções por HIV-2 em Portugal e a toxicodependência representava 3.1% (Gomes, 2003). De acordo com um estudo realizado na Gâmbia, verificou-se que a taxa de transmissão vertical do HIV-2 foi seis vezes mais baixa do que a taxa de transmissão vertical do HIV-1 (Campbell-Yesufu & Gandhi, 2011; Donovan et al., 2000). Em Portugal foi desenvolvido um estudo, que decorreu entre 1999 e 2005, que demonstrou que a taxa de transmissão vertical do HIV-1 durante este período foi de 3.4% e que a taxa de transmissão vertical do HIV-2 foi de 1.5% (E. Pádua et al., 2009).

A infeção por HIV-2, em relação à infeção por HIV-1, caracteriza-se por apresentar níveis mais baixos de carga viral plasmática, uma cinética diferente de replicação viral, níveis mais reduzidos de ADN proviral, uma menor integração e níveis mais elevados de células T CD4+ (Campbell-Yesufu & Gandhi, 2011; Gomes, 2003; MacNeil et al., 2007; Popper et al., 1999; Soares et al., 2006).

Um estudo, realizado mais uma vez em prostitutas do Senegal, demonstrou que a carga viral das mulheres infetadas com o HIV-2 é 30 vezes mais baixa do que a carga viral das mulheres infetadas com o HIV do tipo 1. Este estudo demonstrou, ainda, que a carga viral plasmática está inversamente relacionada com o nível de células T CD4+ (Popper et al., 1999). Paralelamente, um estudo desenvolvido na Guiné-Bissau demonstrou que a carga viral dos indivíduos infetados com o HIV-2 é 28 vezes mais baixa do que a carga viral dos indivíduos infetados com o HIV-1 (Andersson et al., 2000).

No que diz respeito à cinética de replicação viral, existem diferenças entre as cinéticas das infeções por HIV-1 e por HIV-2. Essas diferenças foram comprovadas através da realização de um estudo cujo objetivo era caracterizar a replicação de isolados de HIV-1 e de HIV-2 em monócitos derivados dos macrófagos (MDMs). No HIV-2 observou-se uma intensa replicação do vírus nos dois dias após a infeção seguindo-se, a partir do dia 3, uma aparente fase de latência. Pelo contrário, no HIV-1, após a replicação intensa nos dois dias que se seguiram à infeção, continuou a haver produção viral no decorrer da infeção, embora a uma taxa mais baixa e estável (Marchant, Neil, & McKnight, 2006). Por outro lado, um outro estudo realizado com variantes de HIV-2

obtidas a partir de indivíduos desprovidos, há muito tempo, de carga viral detetável e com variantes de HIV-1 obtidas de indivíduos assintomáticos, demonstrou que as células mononucleares do sangue periférico (PBMCs de *peripheral blood mononuclear cells*) produtivamente infetadas pelo HIV-2 produzem menos partículas virais por ciclo de replicação do que as células produtivamente infetadas com o HIV-1 (Blaak et al., 2006).

Um estudo realizado em França que agrupou os indivíduos por grupos com contagens de células T CD4+ semelhantes demonstrou que, face à infeção por HIV-1, a carga de ADN proviral é significativamente mais baixa nos indivíduos infetados com o HIV-2 com contagens de células T CD4+ superiores a 300 células/ μ L. No grupo com contagens entre 300-500 células T CD4+/ μ L observou-se uma mediana de 2.7 para o ADN do HIV-1 e uma mediana de 2.0 para o ADN dos indivíduos infetados com o HIV-2. No grupo com contagens superiores a 500 células T CD4+/ μ L a mediana para o ADN do HIV-1 foi de 2.5 e para o HIV-2 foi 1.6. No entanto, no grupo com contagens inferiores a 300 células T CD4+/ μ L, a diferença não foi significativa verificando-se que a mediana para o ADN do HIV-1 foi de 2.9 e para o HIV-2 foi 2.7 (Gueudin, Bénard, Chêne, Matheron, & Simon, 2008; Gueudin, Braun, Plantier, & Simon, 2008; Gueudin, Damond, et al., 2008). Em contraste, um estudo que agrupou os indivíduos em grupos com contagens de células T CD4+ semelhantes, por idade, sexo e carga viral plasmática demonstrou que, os indivíduos infetados com o HIV-2 que pertencem ao grupo com contagens de células T CD4+ superiores a 300 células/ μ L, apresentam níveis de ADN similares aos dos indivíduos infetados com o HIV-1 que pertencem ao mesmo grupo (> 500 células/ μ L: mediana de 1.08 para HIV-1 e de 1.24 para HIV-2; 300-500 células/ μ L: mediana de 1.33 para o HIV-1 e de 1.56 para o HIV-2). Os indivíduos infetados com o HIV-2 que possuem contagens de células T CD4+ inferiores a 300 células/ μ L apresentaram níveis de ADN significativamente superiores aos dos indivíduos infetados com o HIV-1 do mesmo grupo (<300 células/ μ L: mediana de 1.58 para o HIV-1 e de 2.34 para o HIV-2) (Gottlieb, Hawes, Kiviat, & Sow, 2008). No primeiro estudo, o facto de não haverem diferenças significativas nos níveis de ADN proviral entre indivíduos infetados com o HIV-1 e os indivíduos infetados com o HIV-2, ambos com contagens de células inferiores a 300 células T CD4+/ μ L, pode estar relacionado com o pequeno número de amostras de indivíduos infetados com o HIV-2 neste grupo (<300 células/ μ L: existem apenas 9 amostras de indivíduos infetados com o HIV-2 face a 14 amostras de indivíduos infetados com o HIV-1), que se explica pela existência de um número

extremamente reduzido destes indivíduos em França (Gueudin, Damond, et al., 2008). O segundo estudo, por sua vez, veio complementar o primeiro na medida em que, para além de agrupar os indivíduos por contagens semelhantes de células T CD4+, agrupou-os também por idade, sexo e carga viral plasmática. Todavia, os resultados obtidos neste estudo só diferiram do primeiro estudo quando se agruparam os indivíduos com as mesmas contagens de células T CD4+, idade e sexo aos indivíduos com a mesma carga viral, o que pode ser explicado pela existência de uma relação entre a replicação viral e os níveis de ADN (Gueudin, Bénard, et al., 2008). Ou seja, para se obter níveis de carga viral semelhantes nos dois tipos de infeção por HIV, o HIV-2 tem de se replicar mais, dado que produz menos partículas virais por cada ciclo de replicação, acabando por ter sempre um nível superior de ADN provírico que não é significativo quando as contagens de células T CD4+ são superiores a 300 células/ μ L mas bastante significativo com contagens inferiores a 300 células/ μ L (fase avançada da infeção).

Existem evidências de que a integração do ADN no genoma da célula hospedeira por parte do HIV-2 é menos eficiente do que no HIV-1. Um estudo que avaliou a produção de 2-*long terminal repeat* (LTR) no ADN circular em células mononucleares presentes no sangue periférico demonstrou que o 2-LTR do ADN do HIV-2 apareceu mais tarde do que o 2-LTR do ADN do HIV-1 mas que se tornou rapidamente mais abundante. Deste modo, a acumulação do 2-LTR do ADN do HIV-2 sugere que a integração na célula hospedeira é menos eficiente comparativamente ao HIV-1 (Gueudin, Braun, et al., 2008).

Por sua vez, um estudo desenvolvido no Senegal procedeu à contagem das células T CD4+ em 21 indivíduos infetados com o HIV-1 e em 18 indivíduos infetados com o HIV-2, todos em fase assintomática. Obtiveram-se contagens para os indivíduos infetados com o HIV-1 que variavam entre 404 e 614 células T CD4+/ μ L e contagens que variavam entre 534 e 1 503 células T CD4+/ μ L nos indivíduos infetados com o HIV-2 (MacNeil et al., 2007).

Por outro lado, existem estudos que demonstram que o decréscimo das células T CD4+ é mais acentuado na infeção por HIV-1. Um estudo desenvolvido no Senegal em indivíduos infetados apenas com o HIV-1 ou com o HIV-2 mostrou que a perda anual de células T CD4+ nos indivíduos infetados com o HIV-2 representa um quarto da perda anual observada nos indivíduos infetados com o HIV-1. Porém, quando se agrupam os indivíduos com carga viral semelhante, os indivíduos infetados tanto com o HIV-1 como

com o HIV-2 apresentam taxas de diminuição das células T CD4+ bastante próximas (4.1% para o HIV-1 e 3.3% para o HIV-2) (Alatrakchi et al., 2006; Cavaleiro et al., 2007; Gottlieb et al., 2002; Leligdowicz et al., 2010; Soares et al., 2006). Um estudo desenvolvido em Portugal demonstrou que o decréscimo das células T CD4+ está relacionado com a frequência de células T CD4+ que expressam o recetor CCR5 (Soares et al., 2006).

A ativação imunitária é um indicador importante da progressão da doença tanto na infeção por HIV-1 como na infeção por HIV-2 (Leligdowicz et al., 2010; Oliveira et al., 2012). Comparativamente ao HIV-1, a maioria dos indivíduos infetados com o HIV-2 revela uma reduzida ativação imunitária (Borrego & Taveira, 2013).

Segundo um estudo realizado na comunidade de Caió na Guiné-Bissau, a carga viral está diretamente relacionada com a ativação imunitária na fase crónica da infeção por HIV-2. Assim, como os indivíduos infetados com o HIV-2 apresentam geralmente uma carga viral inferior à dos indivíduos infetados pelo HIV-1, o seu nível de ativação imunitária é, também, menor do que nos indivíduos com o HIV-1 (Leligdowicz et al., 2010). Paralelamente, existem estudos que demonstram que o nível de ativação imunitária é comparável em ambos os tipos de infeções por HIV quando os indivíduos infetados se encontram em fases similares da doença (Hanson et al., 2005; Leligdowicz et al., 2010; Michel, Balde, Sarthou, & Gougeon, 2000). É, ainda, importante referir que no estudo realizado por Leligdowicz et al. (2010) não foi observada qualquer relação entre a ativação imunitária e os níveis de células T CD4+ com virémia indetetável, o que suporta a hipótese de que a virémia, na infeção por HIV-2, pode contribuir diretamente para a ativação imunitária (Leligdowicz et al., 2010).

Porém, um estudo realizado em Portugal demonstrou que quando os indivíduos infetados pelo HIV-1 e pelo HIV-2 apresentam o mesmo grau de diminuição de células T CD4, exibem níveis de ativação imunitária similares e que é a forte ativação imunitária que conduz à diminuição das células T CD4 e não o contrário (Alatrakchi et al., 2006; Cavaleiro et al., 2009; Grossman, Meier-Schellersheim, Sousa, Victorino, & Paul, 2002; Sousa et al., 2002; Tendeiro et al., 2013). Outro estudo, realizado na Guiné-Bissau em indivíduos infetados com o HIV-1 e em indivíduos infetados com o HIV-2, sugere que o nível de translocação microbiana, medido a partir da concentração plasmática do lipopolissacárido (LPS), é elevado nas infeções por HIV-1 e por HIV-2 em estado

avançado e que está relacionado com a ativação imunitária sistémica. A ativação imunitária está associada à progressão da doença através da diminuição das células T CD4+. Assim, este estudo sugere que a translocação microbiana está relacionada com a patogénese dos indivíduos infetados com o HIV-1 e com o HIV-2 devido ao facto de se traduzir na diminuição de células T CD4+, no aumento da carga viral e numa deficiente resposta a estímulos imunitários (Nowroozalizadeh et al., 2010). Marchetti et al. (2013) referem que a translocação microbiana de produtos do trato gastrointestinal para a circulação portal e sistémica, nas infeções por SIV e HIV, tem sido a grande impulsionadora da ativação imunitária crónica que, por sua vez, está associada à progressão da doença (Marchetti, Tincati, & Silvestri, 2013).

Outro estudo, desenvolvido em Portugal, demonstrou que a ativação imunitária na infeção por HIV-2 está associada à expansão das células que expressam os recetores CCR5 (Soares et al., 2006).

O aumento da ativação imunitária e a progressão para SIDA estão, normalmente, associados a uma diminuição no comprimento dos telómeros das células T CD4+. Foi, portanto, realizado um estudo que pretendia comparar indivíduos infetados por HIV-1 com indivíduos seronegativos e indivíduos infetados por HIV-2 com indivíduos seronegativos com o intuito de perceber se, à medida que a ativação imunitária aumenta e se progride para SIDA, existem alterações no comprimento dos telómeros entre estes grupos. Não se observaram diferenças no comprimento do telómero das células T CD4 que circulavam nos indivíduos infetados com o HIV-2 e nos indivíduos seronegativos. Pelo contrário, face aos indivíduos seronegativos, os indivíduos infetados com o HIV-1 evidenciaram um decréscimo significativo no comprimento do telómero das células T CD4 circulantes. Assim, este estudo demonstrou que, apesar do aumento da ativação imunitária e do *turnover* dos linfócitos, o comprimento dos telómeros é preservado ao longo da infeção por HIV-2, o que não acontece na infeção por HIV-1 (Tendeiro et al., 2013).

Ainda em relação à ativação imunitária a suPAR, forma solúvel no plasma do recetor do ativador de plasminogénio do tipo urocinase, é uma proteína plasmática que se utiliza como biomarcador de risco e que reflete o nível de ativação imunitária e inflamação. Assim, de acordo com um estudo realizado na Guiné-Bissau, níveis elevados da suPAR no sangue são indicadores de mortalidade em indivíduos não tratados com

TARV que se encontram infetados com o HIV-1 ou com o HIV-2 e com ambos os tipos de HIV (Oliveira et al., 2012).

À infeção por HIV-2 também são atribuídas taxas de mortalidade menores do que as da infeção por HIV-1 (Blaak et al., 2006; Gomes, 2003; Martinez-Steele et al., 2007; Prince, Matser, van Tienen, Whittle, & Schim van der Loeff, 2014; UNAIDS, 2013, 2014a, 2014b).

Um estudo realizado na Guiné-Bissau determinou o risco de mortalidade de indivíduos infetados com o HIV-1 face a indivíduos HIV negativos e o risco de mortalidade de indivíduos infetados com o HIV-2 em relação a indivíduos que não se encontram infetados com o HIV. Para o HIV-1 verificou-se uma taxa de mortalidade 4 a 5 vezes maior e para o HIV-2 uma taxa de mortalidade 1.5 a 2 vezes superior (Holmgren et al., 2007). Por sua vez, uma meta-análise que pretendia calcular o rácio da taxa de mortalidade entre indivíduos infetados com o HIV-1 e indivíduos infetados com o HIV-2, demonstrou que o rácio de mortalidade é significativamente superior no HIV-1, variando entre 1.45 e 3.45 (Prince et al., 2014). Para além disso, estudos têm demonstrado que o risco de mortalidade, nos indivíduos infetados com o HIV-2 com idade superior a 45 anos, é menor do que nos indivíduos infetados com o HIV-2 com idades inferiores a 45 anos (> 45 anos: risco de 1.35; <45 anos: risco de 4.72) (Poulsen et al., 1997; Rowland-Jones, 2006). A mortalidade nas crianças que adquirem a infeção por HIV-2 através das suas mães é muito menor do que nas crianças que foram infetadas por transmissão vertical com o HIV-1 (15% no caso da infeção por HIV-1 e 7% na infeção por HIV-2) (Ota et al., 2000; Rowland-Jones, 2006).

Adicionalmente, o HIV-2 responde menos à TARV combinada do que o HIV-1. Um estudo, desenvolvido em França, recorreu a três grupos de indivíduos: indivíduos infetados apenas por HIV-1 ou por HIV-2 cuja data de infeção é conhecida; indivíduos infetados com o HIV-1 ou com o HIV-2 não tratados com a TARV combinada e, por último, indivíduos que iniciaram pela primeira vez a TARV combinada. Tanto no grupo um como no grupo dois verificou-se que os indivíduos infetados com o HIV-2 exibiam um decréscimo mais lento das células T CD4 (-9 células/ μ L por ano no caso do HIV-2 face a -49 células/ μ L por ano no HIV-1). Porém, no grupo três, após dois meses de tratamento, houve um aumento do número de células T CD4 de +59 células/ μ L por mês na infeção por HIV-1 e um aumento de apenas +24 células/ μ L por mês na infeção por

HIV-2. Verificou-se, também, que a carga viral plasmática dos indivíduos infectados com o HIV-1 teve um decréscimo três vezes superior ao decréscimo observado nos indivíduos infectados com o HIV-2 (Drylewicz et al., 2008).

Na tabela seguinte encontram-se descritas as principais características que distinguem, ao nível da história natural, os dois tipos de infeção por HIV:

Tabela 1: Características que distinguem a infeção por HIV-2 da infeção por HIV-1.

Características da infeção por HIV-2 face à infeção por HIV-1
Fase assintomática maior
Progressão para SIDA mais lenta
Transmissibilidade reduzida
Patogenicidade inferior
Carga viral mais baixa
Cinética de replicação diferente
ADN proviral superior na fase crónica da infeção
Menor integração do ADN no genoma das células hospedeiras
Níveis mais elevados de células T CD4+
Decréscimo de células T CD4+ similar na fase crónica da infeção
Níveis comparáveis de ativação imunitária em fases similares da doença
Taxa de mortalidade semelhante na fase crónica da infeção

2.4.3. Respostas imunitárias induzidas pela infeção por HIV

Perante uma infeção por HIV, o sistema imunitário desenvolve mecanismos de defesa contra o vírus que têm como objetivo controlar a sua replicação bem como evitar a progressão da doença. (Espada de Sousa & Victorino, 2011). Esses mecanismos de defesa têm por base respostas de imunidade inata, celular e humoral (Marcelino et al., 2012).

As respostas de imunidade inata constituem a primeira linha de defesa contra agentes patogénicos e desempenham o papel mais importante na defesa do hospedeiro. São ativadas imediatamente após a infeção, controlando rapidamente a replicação do

agente infeccioso até se desenvolverem as respostas de imunidade adquirida (celular e humoral). As respostas de imunidade inata baseiam-se nas barreiras epiteliais, no sistema complemento e em células que apresentam propriedades fagocíticas e apresentadoras de antígenos – granulócitos, macrófagos e células dendríticas (DCs de *dendritic cells*) (Medzhitov & Janeway, 2000; Mogensen et al., 2010; Yan & Lieberman, 2011). Os mecanismos e os receptores envolvidos no reconhecimento dos agentes infecciosos são as principais diferenças entre as respostas de imunidade inata e de imunidade adquirida (Medzhitov & Janeway, 2000).

O reconhecimento dos agentes patogénicos por parte do sistema imunitário inato é mediado por receptores cuja especificidade é geneticamente determinada. Os agentes patogénicos apresentam taxas de mutação bastante mais elevadas do que qualquer um dos seus hospedeiros sendo, por isso, bastante heterólogos (Medzhitov & Janeway, 2000). Assim, a estratégia da imunidade inata consiste em reconhecer algumas das estruturas altamente conservadas em muitos grupos de microrganismos e não em reconhecer todos os antígenos. Essas estruturas altamente conservadas são designadas por padrões moleculares associados a agentes patogénicos (PAMPs de *pathogen-associated molecular patterns*) e os receptores envolvidos no seu reconhecimento são designados por receptores de reconhecimento padrão (PRRs de *pattern recognition receptors*). Os PAMPs são estruturas produzidas apenas pelos agentes patogénicos, são geralmente invariáveis e partilhadas por muitos grupos de microrganismos e são, ainda, cruciais para a sobrevivência ou patogenicidade do agente patogénico (Medzhitov & Janeway, 2000; Mogensen et al., 2010). Após reconhecimento dos PAMPs por parte dos PRRs é desencadeada uma cascata de sinalização que culmina na produção de citocinas pró-inflamatórias incluindo o interferão antiviral (INF) (Brégnard, Benkirane, & Laguet, 2014).

A família dos receptores Toll-like (TLRs), que pertence aos PRRs, tem sido extensivamente estudada. Os TLRs são receptores que se encontram ligados à membrana, tendo já sido identificados dez tipos diferentes em humanos. Os TLRs 1, 2, 4, 5, 6 e 10 são expressos à superfície da célula e reconhecem essencialmente moléculas hidrofóbicas. Por sua vez, os TLRs 3, 7, 8 e 9, que são especialistas no reconhecimento de ácidos nucleicos, encontram-se quase exclusivamente nos endossomas (Mogensen et al., 2010; Weber et al., 2012).

No entanto, o reconhecimento do HIV por parte dos PRRs parece ser bem limitado sugerindo que este retrovírus é particularmente bem sucedido no que diz respeito ao impedimento da ação do sistema imunitário inato. Inúmeras evidências sugerem que o HIV evita ativamente o seu reconhecimento pelos PRRs com o objetivo de evitar a ativação de respostas pró-inflamatórias e antivirais. Isto pode significar que o HIV se encontra provido de estratégias específicas que protegem ou modificam os seus PAMPs no interior das células infetadas (Brégnard et al., 2014; Mogensen et al., 2010).

Por sua vez, as respostas de imunidade celular são mediadas pelos linfócitos T citotóxicos (T CD8+) e pelos linfócitos T CD4+. Os linfócitos T CD8+ são as células que apresentam maior relevância nas respostas de imunidade celular na medida em que têm a capacidade de promover a lise das células que se encontram infetadas pelo vírus com base no reconhecimento dos determinantes víricos nessas células (Choi, Jeong, Han, & Lee, 2014; Duvall et al., 2007; Espada de Sousa & Victorino, 2011). Contudo, à medida que a infeção progride, o HIV é capaz de impedir a resposta citotóxica. Mais precisamente, as proteínas Tat, Nef e Vpu do HIV-1 conseguem reduzir a expressão antigénica na superfície das células infetadas, o que dificulta o reconhecimento antigénico por parte dos linfócitos T CD8+. Para além disso, a proteína Nef é, ainda, capaz de induzir a apoptose dos linfócitos T CD8+, o que se traduz na incapacidade destes linfócitos eliminarem as células infetadas pelo vírus. No que diz respeito aos linfócitos T CD4+ sabe-se que, grande parte dos indivíduos infetados com o HIV têm no sangue periférico células T CD4+ específicas para o vírus e que, por serem o alvo preferido do vírus, diminuem à medida que a infeção avança (Espada de Sousa & Victorino, 2011; Rowland-Jones, 2006).

As respostas humorais são mediadas por anticorpos. A resposta inicial por anticorpos, após a infeção aguda pelo HIV-1, surge cerca de 13 dias depois do início da virémia e o seu alvo é a gp41 do invólucro (Env). Apesar destes anticorpos serem extremamente reativos, não são neutralizantes (Lai et al., 2014).

Os anticorpos que bloqueiam a entrada do vírus nas células-alvo são designados por anticorpos neutralizantes (NAbs de *neutralizing antibodies*) e só aparecem alguns meses após a infeção a partir do momento em que as células B específicas para o antígeno sofrerem vários ciclos de mutação. O invólucro (Env) é um componente essencial para a entrada do HIV na célula, pelo que representa um importante alvo para os NAbs (Lai et

al., 2014; Ringe & Bhattacharya, 2013). Os NAbs podem, desta forma, constituir uma possível abordagem para o tratamento da infeção por HIV (Choi et al., 2014). Para além disso, sabe-se que Env do HIV-1 estimula a imunidade humoral, o que o torna um elemento bastante importante para o futuro desenvolvimento de vacinas contra o HIV (Malherbe et al., 2014). Nos últimos anos, a investigação na área dos anticorpos tem sofrido um progresso substancial tendo-se isolado, a partir de indivíduos infetados com o HIV em fase crónica, anticorpos amplamente neutralizantes (bNAbs de *broadly neutralizing antibodies*) de elevada potência. Estes anticorpos, que apresentam características muito específicas, são capazes de neutralizar um amplo espectro de estirpes de HIV associadas ou não a células e já mostraram a sua eficácia protetora em primatas não humanos e em ratos imunizados (Ringe & Bhattacharya, 2013; Su & Moog, 2014).

Na fase inicial da infeção por HIV os anticorpos são, geralmente, específicos para a estirpe contudo, alguns indivíduos conseguem desenvolver bNAbs na fase crónica da infeção. O facto de os bNAbs serem anticorpos com características bastante peculiares e extremamente difíceis de induzir, faz com que apenas entre 25 e 30% dos indivíduos sejam capazes de sintetizar estes anticorpos após, em média, 2-4 anos do início da infeção por HIV-1. Desses indivíduos apenas 2-4% possui bNAbs capazes de neutralizar a maioria das estirpes de HIV-1 (Cohen & Dolin, 2013; Greenspan, 2014; Lai et al., 2014; Su & Moog, 2014; Zhang et al., 2013).

O Env é o único alvo dos bNAbs e caracteriza-se por várias propriedades que lhe permitem escapar às respostas destes anticorpos, nomeadamente: uma enorme diversidade; o facto de conseguir mascarar os alvos dos bNAbs mediante alterações conformacionais; a proteção devido a extensa glicosilação e, ainda, a capacidade de expor os antígenos em formas não funcionais do Env. Estas características justificam, em grande medida, a inexistência de uma vacina baseada no Env do HIV-1 capaz de induzir imunidade protetora (Garces et al., 2014; Isik, Sliepen, van Montfort, & Sanders, 2014; Khalid et al., 2012; Kong, Li, Georgiev, et al., 2012; Zhang et al., 2013).

Estes bNAbs dirigem-se para quatro grandes locais antígenicos do Env, nomeadamente o local de ligação CD4, o *loop* V1-V2, a V3 e a região proximal externa da membrana da gp41. Os bNAbs caracterizam-se por elevadas mutações, o que de certa forma constitui um requisito para exibir uma ampla e muito potente neutralização (Joyce et al., 2013; Kong, Li, Georgiev, et al., 2012; Lai et al., 2014; Sourial & Nilsson, 2008).

2.4.3.1. Comparação das respostas imunitárias induzidas pelas infecções por HIV-1 e por HIV-2

As células *natural killer* (NK) são células do sistema imunitário inato atuando, por isso, na primeira linha de defesa contra várias infecções virais. Existem evidências recentes de que as células NK têm um papel protetor na infecção crônica por HIV-1. Um estudo realizado recentemente demonstrou que a elevada frequência de células NK CD8+ altamente funcionais, na infecção crônica por HIV-1, está fortemente relacionada com a lenta progressão para SIDA (Ahmad et al., 2014).

Existem vários estudos que demonstram que o HIV-1 tem a capacidade de escapar às respostas de imunidade inata e adquirida. A proteína Nef, uma proteína associada à membrana que é abundantemente expressa na fase inicial da infecção e que é fulcral para a eficiente replicação viral e progressão da doença, tem sido implicada neste processo. Através de um vasto número de atividades que incluem a alteração das vias de transdução de sinal e a diminuição dos recetores CD4, do antígeno leucocitário humano de classe I (HLA-I), do CD28 e do CXCR4 à superfície das células, a proteína Nef consegue proteger as células infetadas das respostas do sistema imunitário bem como facilitar a disseminação do vírus a vários níveis. Ou seja, de acordo com um estudo realizado em Itália, a proteína Nef juntamente com o fator Vpu diminui o ligando PVR (proteína essencial para a ativação das células NK) nos linfócitos T infetados com o HIV-1. Deste modo, a diminuição do PVR pode afetar as respostas por parte do sistema imunitário bem como comprometer os processos celulares mediados pelo PVR, nomeadamente a adesão, a migração e, até mesmo, a patogénese do HIV-1. Contudo, este processo não se verificou no vírus da imunodeficiência humana do tipo 2 (Matusali, Potestà, Santoni, Cerboni, & Doria, 2012).

Um outro estudo sugere que, na infecção por HIV-2, o biomarcador solúvel CD14, que está implicado indiretamente na ativação dos monócitos/macrófagos, se encontra positivamente associado à progressão da doença. Ou seja, os indivíduos que têm níveis do biomarcador solúvel CD14 superiores a 1.74 µg/mL apresentam uma taxa de progressão da doença três vezes superior (Thiébaud et al., 2012).

Os monócitos/macrófagos e as células dendríticas mieloides são os principais produtores de citocinas pró-inflamatórias atuando, assim, na ativação e diferenciação

das respostas imunitárias adaptativas bem como no recrutamento de células T para o local de replicação viral. Um estudo demonstrou que as células dendríticas mieloides (mDCs) e plasmacitóides (pDCs) são menos suscetíveis à infecção por HIV-2, *in vitro*, do que à infecção por HIV-1 (Duvall et al., 2007). Outro estudo demonstrou que existe elevada ativação de monócitos e mDCs durante toda a infecção por HIV-2 bem como a regulação de moléculas inibitórias, o que pode contribuir para a evolução relativamente benigna da infecção por HIV-2 (Cavaleiro et al., 2013). Para além disso, nos indivíduos infetados com o HIV-2 há uma forte correlação entre a expressão da molécula PD-L1 e a depleção de células T CD4 e ativação imunitária das células T, sugerindo que o controlo da expressão da PD-L1, por mais pequeno que seja, pode contribuir para a retardar a progressão da infecção por HIV-2 (Tendeiro, Foxall, et al., 2012).

A proteína Nef apresenta diferenças consideráveis ao nível das funções que desempenha nos dois tipos de HIV. A proteína Nef do HIV-2 e da maioria dos SIVs consegue bloquear a ativação e a morte programada das células T que se encontram infetadas devido ao facto de conseguir diminuir a molécula CD3 presente nos recetores das células T (TCR-CD3). Pelo contrário, o HIV-1 é incapaz de remover a molécula CD3 da superfície das células, aumentando a ativação das células T infetadas (Arhel et al., 2009; Feldmann et al., 2009). Foi, portanto, realizado um estudo com o intuito de avaliar a existência ou não de um efeito protetor da proteína Nef na infecção por HIV-2. Os resultados do estudo sugeriram que, a diminuição eficiente de TCR-CD3 e da molécula CD28 por parte da proteína Nef, contribui para a manutenção da homeostase das células T CD4⁺ nos indivíduos com contagens de células superiores a 500 células/ μ L devido à prevenção da ativação das células T. Não se observou, porém, o mesmo efeito os indivíduos infetados com o HIV-2 com contagens de células inferiores a 500/ μ L (Khalid et al., 2012). No entanto, um estudo prévio demonstrou que a diminuição de TCR-CD3 não era impeditivo da progressão para SIDA nos indivíduos infetados com o HIV-2 (Feldmann et al., 2009).

Foi também realizado um estudo que demonstrou que os indivíduos infetados com o HIV-2 apresentam uma resposta específica para a Gag homóloga, por parte das células T CD4, mais ampla e mais forte do que a resposta dos indivíduos infetados com o HIV-1. Por outro lado, verificou-se que as respostas de reatividade cruzada pelas células T na infecção por HIV-2 foram menos amplas e mais fracas do que nos indivíduos infetados

com o HIV-1. Assim, este estudo sugere que o elevado nível de respostas específicas para o HIV-2 pelas células T controlam a replicação do HIV-2, limitando a sua diversificação e iniciando, ao longo do tempo, respostas reativas cruzadas para o HIV-1 (Jennes, Camara, Dièye, Mboup, & Kestens, 2008). Outro estudo já tinha confirmado que a resposta específica para a Gag do HIV-2 mediada pelas células T é responsável pelo controlo da virémia na infeção pelo tipo 2 do HIV (Leligdowicz & Yindom, 2007).

Ao contrário do que acontece na infeção por HIV-1, a maioria dos indivíduos infetados com o HIV-2 induzem a produção de elevados títulos de bNAbs na fase crónica, que neutralizam a maioria das estirpes heterólogas de HIV-2, o que sugere que estes anticorpos podem contribuir diretamente para a supressão da replicação do vírus e para o controlo da progressão da doença (Kong, Li, Bibollet-Ruche, et al., 2012; Kong, Li, Georgiev, et al., 2012; Marcelino et al., 2012; Rowland-Jones, 2006).

Um estudo demonstrou que é frequente a deteção da neutralização pela IgA na infeção por HIV-2, enquanto a neutralização da IgA na infeção por HIV-1 é detetada muito raramente (Lizeng et al., 2003). Nos indivíduos duplamente infetados as IgA e IgG apresentam uma maior potência para a neutralização no HIV-2 (Şahin et al., 2012).

De acordo com um estudo, na infeção por HIV-2, é raro haver fuga à neutralização autóloga e não existem quaisquer relações entre o tipo de recetor usado e a neutralização. Verificou-se que um isolado X4, P4-V2000, resistiu à neutralização heteróloga mas foi neutralizado por todos os soros autólogos. Pelo contrário, o isolado P8-V1998, foi fracamente neutralizado pelos soros autólogos e eficientemente neutralizado por todos os soros heterólogos de HIV-2. Demonstrou ainda a capacidade que o soro do HIV-2 tem de promover a neutralização cruzada heteróloga em isolados de HIV-2 de outros subtipos (Shi et al., 2005).

Mais recentemente, trabalhando com doentes que representam todo o espectro clínico da infeção por HIV-2, Marcelino et al. (2012) demonstraram que os vírus R5 eram bastante sensíveis à neutralização por anticorpos presentes nos doentes mas que os vírus X4, que emergem em alguns doentes nas fases avançadas da doença, são resistentes à neutralização. Estes resultados sugerem que a resistência à neutralização no HIV-2 está associada ao tropismo X4 (Marcelino et al., 2012). Esta é uma diferença importante para

o HIV-1, em que não parece haver qualquer relação entre tropismo e suscetibilidade à neutralização por anticorpos.

As moléculas HLA da classe I apresentam antígenos às células T citotóxicas e são centrais nas respostas de imunidade adquirida. Estas moléculas servem de ligandos para os KIRs (*killer cell immunoglobulin-like receptors*). Estes recetores modulam a função das células NK e podem ser recetores de ativação ou inibitórios. Após ligação ao seu ligando, o KIR inibitório suprime a atividade da célula NK. Foi realizado um estudo que analisou os alelos HLA-A, -B e -C em indivíduos infetados com o HIV-2 que demonstrou que os indivíduos portadores do alelo comum, B*1503, estão mais suscetíveis à progressão para SIDA do que os indivíduos que não são portadores deste alelo e que o alelo B*0801 está relacionado com a suscetibilidade para a infeção. Verificou-se ainda que os alelos que estão fortemente associados à doença no HIV-1 não mostram efeitos no que diz respeito à doença por HIV-2 (Yindom et al., 2010).

2.5. Epidemiologia da infeção por HIV

Os dois tipos de HIV apresentam distribuições geográficas distintas. O HIV-1 causa pandemias encontrando-se, por isso mesmo, distribuído por todo o mundo. Pelo contrário, o HIV-2 origina epidemias centradas em algumas regiões do globo. Deste modo, o HIV-2 localiza-se, essencialmente, na África Ocidental em países como a Guiné-Bissau, Gâmbia, Cabo Verde e Costa do Marfim. Todavia, devido às ligações coloniais do passado entre a África Ocidental, a Europa e antigas colónias portuguesas noutros continentes, surgiram também casos de infeção pelo tipo 2 do HIV em países como Portugal, França, Brasil e Índia. Portugal é o país Europeu que apresenta uma maior prevalência de infeção por HIV-2. Deste modo, estima-se que a infeção pelo HIV-2 afeta entre um e dois milhões de pessoas (Borrego & Taveira, 2013; Campbell-Yesufu & Gandhi, 2011; Carvalho et al., 2012; Z. J. da Silva et al., 2008; Diwan et al., 2013; Faria et al., 2012, 2014; Gottlieb, 2013; Martinez-Steele et al., 2007; Elizabeth Pádua, 2011; Tendeiro et al., 2013; Valadas, França, Sousa, & Antunes, 2009).

De acordo com os dados estatísticos publicados pela *Joint United Nations Program on HIV/AIDS* (UNAIDS) estima-se que, até ao término do ano 2013, existiam aproximadamente 35 milhões de pessoas a viver com o HIV-1, 19 milhões das quais sem

saber que estão infetadas (UNAIDS, 2014a, 2014b). Destas 35 milhões de pessoas, 31.8 milhões eram adultos, representando as mulheres 16 milhões, e cerca de 3.2 milhões eram crianças com menos de quinze anos de idade. Ainda em 2013, a UNAIDS estimou que cerca de 2.1 milhões de pessoas foram infetadas com o HIV-1 das quais 1.9 milhões eram adultas e 240 mil eram crianças com idade inferior a quinze anos, o que equivale a uma média de 6 000 novas infeções por dia. Paralelamente, verificou-se que cerca de 1.5 milhões de pessoas morreram em 2013 devido à SIDA e que a Nigéria foi o país que obteve um maior número de mortes (UNAIDS, 2014a).

No entanto, face ao ano de 2012, é possível verificar que, em 2013, houve um decréscimo no número total de pessoas que viviam com o HIV, no número total de novas infeções e no número total de mortes por SIDA (Chanzu & Ondondo, 2014; Lima et al., 2014; UNAIDS, 2013).

É de notar, ainda, que existem diferenças bastante consideráveis no que concerne à prevalência mundial da infeção por HIV, revelando-se a África Subsariana a região mais afetada com, aproximadamente, 24.7 milhões de indivíduos afetados (Figura 5) (UNAIDS, 2014a).

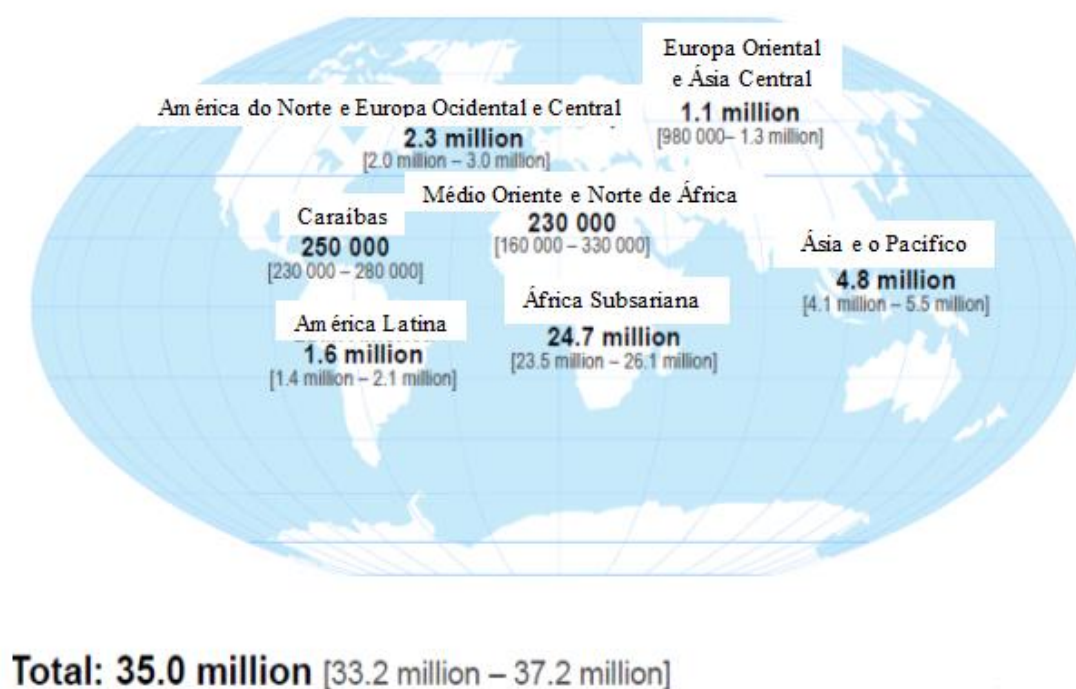


Figura 5: Prevalência mundial da infeção por HIV. Adaptado de UNAIDS (2014).

Contudo, tem-se assistido, desde 1990, a uma diminuição progressiva da prevalência do HIV-2 na África Ocidental enquanto acontece o inverso com o HIV-1, que tem vindo a aumentar nesta região. As razões que estão na origem destes acontecimentos estão, ainda, por esclarecer (Gottlieb, 2013; Prince et al., 2014).

Na Guiné-Bissau, entre 1996 e 2006, assistiu-se a um decréscimo na prevalência da infeção por HIV-2 de 7.4% (em 1996) para 4.4% (em 2006). Dados anteriores, de 1987, revelaram que a prevalência da infeção por HIV-2 neste ano era de 8.9%. Por sua vez, na infeção por HIV-1, houve um aumento na prevalência de 2.3%, em 1996, para 4.6%, em 2006 (Z. J. da Silva et al., 2008).

Estudos realizados em mulheres grávidas na Guiné-Bissau mostraram que, no período que decorreu entre 1987 e 2004, houve um decréscimo na prevalência da infeção por HIV-2 de 8.3% em 1987 para 2.5% em 2004 e que a prevalência da infeção por HIV-1, que era de 0% em 1987, atingiu os 4.8% em 2004. De 1997 para 1999 a prevalência da infeção por HIV-1 em mulheres grávidas aumentou para mais do dobro, de 2.5% para 5.2% respetivamente. O aumento significativo da prevalência do HIV-1 entre 1987 e 2004 pode ter sido potenciado pela guerra civil que decorreu entre 1998 e 1999 (Månsson et al., 2007).

Durante o período que decorreu entre 1988 e 2003, foi realizado um estudo na Gâmbia que também demonstrou um decréscimo na prevalência da infeção por HIV-2 e um aumento na prevalência da infeção por HIV-1. Entre 1988 e 1991 a prevalência da infeção por HIV-1 era de 4.2%. No período entre 2001 e 2003 a prevalência já tinha atingido os 17.5%. Por sua vez, a prevalência da infeção por HIV-2, que era de 7.0% entre 1988 e 1991, diminuiu para 4.0% entre 2001 e 2003 (Eholié & Anglaret, 2006; van der Loeff et al., 2006).

Não obstante, apesar da redução da incidência e da prevalência da infeção por HIV-1 nos últimos tempos ainda não existe uma vacina contra o HIV, que é, indubitavelmente, a melhor forma de prevenção da infeção (Delany, Rappuoli, & De Gregorio, 2014; Lema et al., 2014; Steckbeck et al., 2013).

3. Desenvolvimento de vacinas contra o HIV-1

O desenvolvimento de vacinas eficazes deve-se, em grande parte, ao progresso da ciência. Assim, o desenvolvimento de novas vacinas através da aplicação de tecnologias inovadoras permitiu controlar, no último século, novas doenças e novas populações-alvo. Contudo, só se conseguiram obter vacinas eficazes contra agentes patogénicos com um nível reduzido de variabilidade antigénica, na medida em que, os agentes patogénicos que apresentam variadas espécies e um grau de variabilidade antigénica considerável necessitam de vacinas polivalentes. Como tal, essas vacinas não tiveram grande sucesso contra agentes patogénicos com elevada taxa de mutação, como o HIV, devido à capacidade que estes agentes têm de modificar os antígenos-alvo durante o decorrer da infeção escapando, desta forma, à resposta dos anticorpos (Delany et al., 2014).

No que diz respeito à prevenção e erradicação de doenças infecciosas, as vacinas têm sido a abordagem mais segura, eficaz e económica (Lema et al., 2014). Deste modo, uma vacina anti-HIV é uma necessidade imediata tendo em conta que, mundialmente, existem regiões extremamente afetadas - África Subariana e Ásia e Pacífico (Diwan et al., 2013; Ondondo, 2014; Ringe & Bhattacharya, 2013; UNAIDS, 2014a). A título de exemplo, estima-se que se fosse administrada a 30% da população mundial uma vacina com 50% de eficácia, seriam evitadas mais de cinco milhões de infeções em dez anos (Rabinovich et al., 2014).

Há praticamente trinta anos que se descobriu que o HIV-1 é o agente causador da SIDA e, a partir desse momento, iniciaram-se pesquisas com a finalidade de conseguir travar, de alguma forma, esta pandemia. A pesquisa desenvolvida ao longo de todos estes anos permitiu obter um vasto conhecimento científico acerca do HIV, nomeadamente no que diz respeito à sua biologia, imunologia e epidemiologia e permitiu, ainda, desenvolver e avaliar diferentes abordagens. A terapêutica antirretrovírica (TARV) altamente ativa é uma das abordagens que tem demonstrado resultados bastante significativos devido ao facto de retardar a progressão da doença. No entanto, apesar da TARV aumentar a esperança de vida dos indivíduos que realizam esta terapêutica, não consegue evitar a progressão da doença (Caoili, 2014; Steckbeck et al., 2013; Voronin & Phogat, 2010).

O HIV-1 é um alvo difícil na medida em que apresenta inúmeros obstáculos à concepção de uma vacina eficaz e segura (Lema et al., 2014). O principal obstáculo do HIV-1 é a sua enorme variabilidade genética resultante de elevadas taxas de mutação e recombinação genómicas, o que dá origem a vários grupos, subtipos e subsubtipos de HIV-1 localizados em áreas geográficas distintas. Contudo, existem outras barreiras, tais como: a extensa glicosilação da gp120, o principal alvo antigénico reconhecido por anticorpos potencialmente protetores; a elevada diversidade na estrutura primária das glicoproteínas do invólucro; a capacidade que o HIV-1 tem de infetar e diminuir o número de linfócitos T CD4+ e de outras células essenciais para o funcionamento do sistema imunitário; o estabelecimento de reservatórios víricos devido à integração do genoma vírico no genoma da célula hospedeira; a incapacidade de produzir anticorpos neutralizantes específicos a partir das células B e, por último, a inexistência de um modelo animal eficaz para a realização de ensaios clínicos (Antunes, 2011; Chanzu & Ondondo, 2014; Cohen & Dolin, 2013; Delany et al., 2014; Diwan et al., 2013; Greenspan, 2014; Rucevic, Boucau, Dinter, Kourjian, & Gall, 2014). Uma vacina específica para um determinado subtipo de HIV-1, pode ser ineficaz contra outros subtipos pelo que a criação de uma vacina global para o HIV do tipo 1 é bastante difícil (Cohen & Dolin, 2013).

Assim, uma vacina eficaz deve induzir uma imunidade forte e duradoura contra o HIV-1 bem como prevenir a infeção em indivíduos saudáveis e/ou reduzir a replicação e a carga viral dos indivíduos infetados de forma a retardar ou, até mesmo, parar a progressão da doença e a transmissão do vírus (Antunes, 2011; Cohen & Dolin, 2013; Lema et al., 2014; Ondondo, 2014). Ou seja, a combinação de uma forte resposta por parte dos anticorpos com as respostas das células T para, respetivamente, prevenir a instalação da infeção e controlar a replicação viral, constitui a abordagem mais aceite no que concerne ao *design* de uma vacina contra o HIV-1 (Ringe & Bhattacharya, 2013; Rucevic et al., 2014).

As vacinas vivas atenuadas e inativadas foram as primeiras vacinas a serem desenvolvidas contra o HIV-1. Ambas foram testadas em primatas não humanos e, embora se tenha verificado que lhes conferia imunidade, não foram utilizadas em ensaios clínicos com humanos. Todavia, na prática, as vacinas produzidas através de subunidades proteicas foram as primeiras candidatas a ensaios clínicos em humanos (Antunes, 2011;

Cohen & Dolin, 2013; Lema et al., 2014). Desde então, já foram realizados mais de 200 ensaios clínicos com vacinas contra o HIV-1 (Chanzu & Ondondo, 2014).

3.1. Vacinas de subunidades proteicas

As vacinas de subunidades proteicas apresentam uma importante vantagem face aos outros tipos de vacinas já testados. Essa vantagem prende-se com a vasta experiência no *design* e na produção de vacinas com base em subunidades de proteínas, o que não se verifica nos outros tipos de vacinas (Cohen & Dolin, 2013).

Tal como já foi referido anteriormente, o invólucro do HIV-1 é constituído pelas glicoproteínas gp120 e gp41 que resultam de uma glicoproteína precursora, a gp160. São estas glicoproteínas que servem de modelo para as vacinas de subunidades proteicas. Deste modo, nos primeiros ensaios clínicos realizados com vacinas contra o HIV-1, foram utilizados como substâncias imunogénicas os monómeros da glicoproteína recombinante gp160 (rgp160) e da glicoproteína recombinante gp120 (rgp120). Relativamente à vacina obtida a partir da rgp160 verificou-se que apenas houve a produção de anticorpos neutralizantes contra o subtipo homólogo ao da vacina e que esses anticorpos evidenciavam uma resposta limitada. Pelo contrário, a vacina produzida com base na rgp120 revelou, na fase I do ensaio, uma imunogenicidade superior à da vacina supra referida e apetência para neutralizar um subtipo heterólogo ao da vacina. Uma outra vacina obtida a partir da rgp120 de um subtipo de HIV-1 diferente do anterior mostrou, por sua vez, ser eficaz em subtipos heterólogos tanto em chimpanzés como em humanos. Esta última vacina foi, portanto, o ponto de partida para o desenvolvimento das vacinas AIDSVAX utilizadas nos ensaios clínicos VAX004 e VAX003 (Chanzu & Ondondo, 2014; Cohen & Dolin, 2013; Lema et al., 2014; Ondondo, 2014; Ringe & Bhattacharya, 2013).

O primeiro ensaio clínico realizado com o intuito de avaliar a eficácia de uma vacina foi o VAX004 e teve início em 1998 na América do Norte e na Holanda. Este ensaio testou a vacina AIDSVAX B/B (VaxGen) num grupo considerado de elevado risco, o grupo dos homens homossexuais. Em 1999 seguiu-se o ensaio VAX003, na Tailândia, que avaliou a vacina AIDSVAX B/E em indivíduos consumidores de drogas injetáveis, um outro grupo que se considera de alto risco. Contudo, apesar de se verificar

que existiam anticorpos neutralizantes em alguns indivíduos, nenhuma das vacinas foi capaz de induzir proteção contra a infecção, de reduzir a carga viral nem de retardar a evolução da doença em grupos de alto risco (Antunes, 2011; Cohen & Dolin, 2013; Delany et al., 2014; Ensoli, Cafaro, Monini, Marcotullio, & Ensoli, 2014; Lema et al., 2014).

A produção dos monómeros da glicoproteína recombinante gp120 utilizados nos ensaios VAX era relativamente simples mas não representava com precisão a glicoproteína gp120 do invólucro viral. Como tal, e com o objetivo de induzir respostas mais significativas por parte dos anticorpos neutralizantes, as substâncias imunogénicas atuais apresentam uma estrutura conformacional mais próxima da gp120 do invólucro vírico (Cohen & Dolin, 2013).

A descoberta de anticorpos amplamente neutralizantes (bNAbs de *broadly neutralizing antibodies*) de elevada potência contra o HIV-1 proporcionou avanços no que diz respeito ao *design* de novas vacinas uma vez que permitiram a identificação dos principais epitopos neutralizantes, bem como a cristalização do invólucro (Env) do HIV-1. A cristalização do Env foi crucial para a sua caracterização estrutural, permitindo o *design* de novas moléculas que apresentem melhor os epitopos neutralizantes ao sistema imunitário (Ahlers, 2014; Cohen & Dolin, 2013; Ringe & Bhattacharya, 2013).

3.2. Vacinas com vetores virais

A imunidade celular tem demonstrado uma enorme relevância no controlo da virémia na infecção pelo HIV-1. A utilização de vetores virais recombinantes é uma das possíveis abordagens a utilizar em vacinas contra o HIV-1 na medida em que permitem a entrega eficiente das substâncias imunogénicas da vacina no contexto de uma infecção viral e, ainda, porque apresentam um grande potencial para induzir respostas celulares e humorais. Quanto mais replicativo for o vetor viral maior é o seu interesse porque quando é pouco replicativo é incapaz de produzir uma quantidade de antígeno suficiente para a indução de uma forte resposta humoral (Cohen & Dolin, 2013; Rabinovich et al., 2014). Deste modo, é escolhido um vírus com uma replicação pouco competente que, posteriormente, é geneticamente modificado com o objetivo de expressar um determinado gene de interesse (Cohen & Dolin, 2013). Canarypox, fowlpox, o vírus influenza e os

adenovírus são alguns dos vetores víricos já testados em vacinas contra o HIV-1 (Cohen & Dolin, 2013; Lema et al., 2014; Ondondo, 2014; Smith, Tanner, & Dalgleish, 2014).

O serotipo 5 do adenovírus recombinante (rAd5), que expressa os genes *gag*, *pol* e *nef* do subtipo B do HIV-1, demonstrou uma atividade imunogénica particular sendo, por isso, utilizado como vetor nos ensaios clínicos Step (HVTN 502) e Phambili (HVTN 503). Estes dois ensaios foram os primeiros ensaios completos a avaliar se uma vacina que foi formulada para induzir respostas pelas células T seria eficaz na proteção contra a infeção pelo HIV-1 ou na redução da carga viral (Chanzu & Ondondo, 2014; Cohen & Dolin, 2013; Delany et al., 2014; Ensoli et al., 2014; Lema et al., 2014; Ondondo, 2014; Rucevic et al., 2014).

O ensaio Step foi conduzido na América do Norte e do Sul, na Austrália e nas Caraíbas, na sua maioria, em homens homossexuais mas também em homens e mulheres heterossexuais. Por sua vez, o ensaio Phambili foi realizado em homens e mulheres heterossexuais na África do Sul (Cohen & Dolin, 2013; Lema et al., 2014). Apesar destes ensaios estimularem respostas mediadas pelas células T CD8+ na maioria dos indivíduos, estas respostas revelaram-se fracas, limitadas a um número reduzido de antigénios e, para além disso, não se verificou uma redução na carga viral. Ambos os ensaios foram interrompidos prematuramente devido ao facto dos resultados do ensaio Step evidenciarem um aumento do risco de infeção por HIV-1 nos homens homossexuais e nos homens que não foram sujeitos a circuncisão (Chanzu & Ondondo, 2014; Cohen & Dolin, 2013; Delany et al., 2014; Ensoli et al., 2014; Lema et al., 2014; Ondondo, 2014; Rucevic et al., 2014).

Na sequência dos resultados obtidos no ensaio Step, foram avaliados outros vetores com base em serotipos de adenovírus menos prevalentes do que o Ad5, verificando-se que os vetores recombinantes Ad26 e Ad35 evidenciaram imunogenicidade na fase I dos ensaios. Paralelamente, foram também avaliados vetores de poxvírus e um dos vetores avaliados de canarypox revelou, tanto na fase I como na fase II dos ensaios, imunogenicidade limitada (Cohen & Dolin, 2013; Lema et al., 2014).

3.3. Vacinas com subunidades proteicas e vetores virais

A combinação de várias estratégias na concepção de vacinas visa aperfeiçoar e tornar as respostas produzidas pelo sistema imunitário mais abrangentes (Cohen & Dolin, 2013).

O ensaio clínico RV144 utilizou essa abordagem combinando duas vacinas: o vetor recombinante de canarypox que expressa os genes *env*, *gag* e *pol* (ALVAC) e a rgp120 dos subtipos B e E (AIDSVAX B/E) utilizada no ensaio VAX003. A vacina que resulta da combinação destas duas vacinas foi testada na Tailândia em homens e mulheres heterossexuais, que constituem um grupo de baixo risco. Em 2009, os resultados provenientes do ensaio RV144 mostraram que esta vacina foi eficaz no que toca à proteção contra a infeção pelo HIV-1 em 31.2% dos indivíduos intervenientes no ensaio. No entanto, a maioria dos anticorpos produzidos neste ensaio não eram neutralizantes e os indicadores de proteção foram os anticorpos IgG que se ligaram à região V1V2 da gp120 do Env (Chanzu & Ondondo, 2014; Cohen & Dolin, 2013; Delany et al., 2014; Ensoli et al., 2014; Lema et al., 2014; Ondondo, 2014; Ringe & Bhattacharya, 2013; Tuero & Robert-Guroff, 2014; Voronin & Phogat, 2010).

3.4. Vacinas de ADN

As vacinas de ADN são constituídas por um plasmídeo que codifica para determinadas proteínas de interesse. O estudo mais recente que avalia a eficácia clínica de uma vacina contra o HIV-1, HVTN 505, tem por base esta estratégia (Cohen & Dolin, 2013; Lema et al., 2014).

Neste estudo, que teve início em 2009 nos Estados Unidos da América, administrou-se um plasmídeo de ADN e um vetor recombinante de adenovírus (rAd5) em homens homossexuais submetidos a circuncisão. O plasmídeo de ADN permitia a expressão dos genes *gag*, *pol* e *nef* (do subtipo B do HIV-1) e *env* (do subtipo A, B e C do HIV-1) e o vetor rAd5 expressava para além dos genes *gag* e *pol*, o gene *env* e não o gene *nef* como no ensaio Step. Esta alteração foi realizada com o intuito de tentar evitar o que aconteceu no ensaio Step, isto é, o aumento do risco de aquisição da infeção por HIV-1. O ensaio HVTN 505, cujo término estava previsto para 2015, foi interrompido

em abril de 2013 devido ao facto dos resultados iniciais revelarem ineficácia tanto na prevenção da infeção como na redução da carga viral (Chanzu & Ondondo, 2014; Cohen & Dolin, 2013; Delany et al., 2014; Ensoli et al., 2014; Lema et al., 2014; Ondondo, 2014).

Na tabela que se segue é possível analisar, de forma sucinta, os diferentes ensaios clínicos realizados com vacinas contra o HIV-1 (Lema et al., 2014):

Tabela 2: Diferentes ensaios clínicos realizados com vacinas contra o HIV-1. Adaptado de Lema et al., (2014)

<i>Ensaio Clínico</i>	<i>Data</i>	<i>Fase</i>	<i>Tipo de Vacina</i>	<i>Resposta Imunológica</i>	<i>Resultado</i>
VAX004	1998-2003	III	rgp120 (subtipo B)	Humoral	Ineficaz
VAX003	1999-2003	III	rgp120 (subtipos B+E)	Humoral	Ineficaz
Step	2004-2007 (terminou provavelmente devido ao aumento da aquisição da infeção por HIV-1)	IIb	rAd5 (gag/pol/nef)	Celular	Aumentou o risco de infeção por HIV-1 em homens tanto homossexuais como não submetidos a circuncisão
Phambili	2007-2007 (parou devido aos resultados do ensaio Step)	IIb	rAd5 (gag/pol/nef)	Celular	Ineficaz
RV144	2003-2009	III	Canarypox (gag/pol/nef) + rgp120	Celular + humoral	31,2% de eficácia
HVTN 505	2009-2015 (interrompido em 2013 porque os resultados iniciais revelavam que era ineficaz na prevenção de infeções pelo HIV-1 bem como na redução da carga viral nos participantes que foram infetados com o vírus)	IIb	Plasmídeo de ADN (gag/pol/nef/nev) + rAd5 (gag/pol/env)	Celular + humoral	Ineficaz

Nos últimos dois anos tem-se assistido a uma série de progressos científicos relacionados com o desenvolvimento de uma vacina eficaz contra o HIV-1. As estratégias

a seguir passam pelo desenvolvimento de novas substâncias imunogénicas capazes de contornar a diversidade de respostas das células T, pela indução de respostas imunitárias mais abrangentes e mais duradouras a fim de melhorar a eficácia do ensaio RV144 e pelo desenvolvimento de estratégias que induzam a produção de bNAbs (Haynes et al., 2014).

No fundo, para que se consiga desenvolver uma vacina eficaz, é necessário transformar as fracas respostas imunitárias em respostas dominantes (Haynes et al., 2014).

4. O HIV-2 como modelo para uma vacina contra o HIV-1

Como se viu anteriormente, o HIV-2 é um modelo de estudo no que diz respeito aos mecanismos que controlam a infecção e a sua melhor compreensão pode permitir o desenvolvimento de novas estratégias para a prevenção e tratamento do HIV-1 (Duvall et al., 2009; Yindom et al., 2010).

Os dois tipos de vírus da imunodeficiência humana, HIV-1 e HIV-2, foram introduzidos na população humana por meio de transmissões cruzadas do vírus da imunodeficiência dos símios (SIV) entre primatas e o homem (Borrego & Taveira, 2013; Diwan et al., 2013; Gottlieb, 2013; Peeters et al., 2014; Taveira & Ferreira, 2011). O HIV-1 do grupo M, único grupo pandémico, surgiu por volta de 1920 em Kinshasa, a capital da República Democrática do Congo (Faria et al., 2014). Por outro lado, o HIV-2 do grupo mais prevalente (grupo A) surgiu em Caió, uma zona rural da Guiné-Bissau, por volta de 1938 (Faria et al., 2012). O HIV-2 foi reportado e isolado pela primeira vez em 1986 a partir de dois indivíduos com SIDA, um das ilhas de Cabo Verde e outro da Guiné-Bissau (Clavel et al., 1986; Rowland-Jones, 2006; Yindom et al., 2010).

Tal como mencionado anteriormente, o HIV-1 encontra-se distribuído mundialmente, sendo responsável pela morte de mais de 30 milhões de pessoas. Atualmente, pensa-se que é responsável por, aproximadamente, 35 milhões de infeções e, apesar dos modos de transmissão da infecção nos dois tipos de HIV serem semelhantes, o HIV-1 é considerado um agente patogénico com maior sucesso do que o HIV-2. Pelo contrário, o HIV-2 encontra-se maioritariamente na África Ocidental e estima-se que seja responsável por 1 a 2 milhões de infeções (Borrego & Taveira, 2013; Campbell-Yesufu & Gandhi, 2011; Carvalho et al., 2012; Z. J. da Silva et al., 2008; Diwan et al., 2013; Gottlieb, 2013; Prince et al., 2014; Tendeiro et al., 2013; UNAIDS, 2014a, 2014b).

Ainda que existam diferenças consideráveis quer na epidemiologia quer na virulência de ambos os tipos de HIV, os mecanismos que estão na base destas disparidades não são, atualmente, conhecidos. Todavia, tal como foi exemplificado no subcapítulo 2.4.2, existem estudos que demonstram que face à infecção por HIV-1, a infecção por HIV-2 apresenta uma fase assintomática bastante mais longa, uma progressão para SIDA mais lenta, uma patogenicidade inferior, uma carga viral plasmática mais baixa, uma cinética de replicação viral diferente, um número mais elevado de células T

CD4+, um decréscimo menos acentuado das células T CD4+ na fase aguda da infecção, uma ativação imunitária comparável em fases similares da doença, uma taxa de mortalidade por SIDA semelhante na fase crónica da infecção, uma taxa reduzida de transmissão vertical (de mãe para filho) e, por fim, uma taxa de transmissão sexual baixa (Alatrakchi et al., 2006; Borrego & Taveira, 2013; Cavaleiro et al., 2007, 2009; Diwan et al., 2013; Gottlieb, 2013; Gueudin, Damond, et al., 2008; Kannangara, DeSimone, & Pomerantz, 2005; Leligdowicz et al., 2010; Nowroozalizadeh et al., 2010; Prince et al., 2014; Schramm et al., 2000; Sousa et al., 2002; Tendeiro et al., 2013; Uchtenhagen et al., 2011).

O HIV-2 pode conduzir à SIDA tal como o HIV-1, no entanto, muitos dos indivíduos infetados com o HIV-2 não desenvolvem imunodeficiência ao longo da sua vida e as contagens de linfócitos T CD4 mantêm-se estáveis durante vários anos (Duvall et al., 2009; Hegedus et al., 2014). Porém, a propensão para a não progressão da doença não deve ser explicada exclusivamente em termos virológicos. Deve, também, ter-se em conta que a patogenicidade das células T CD4, *in vitro*, é semelhante no HIV-1 e no HIV-2 e que a evolução da doença no HIV-2 ocorre com níveis de carga viral bem mais baixos do que no HIV-1 (Hegedus et al., 2014).

A recente descoberta de que a carga viral na infecção por HIV-2 é, por vezes, detetável e outras vezes indetetável pode indicar que a carga viral e o risco de progressão da infecção por HIV-2 dependem de fatores intrínsecos do hospedeiro (Gottlieb, 2013). A carga viral reduzida ou indetetável é, portanto, um indicador do baixo risco de progressão da doença (Hegedus et al., 2014). Assim, a compreensão dos fatores que se encontram efetivamente envolvidos no controlo da replicação viral e progressão da doença em indivíduos infetados com o HIV-2 pode impulsionar o desenvolvimento de estratégias capazes de prevenir e tratar a infecção por HIV-1 (Rocha et al., 2013).

O HIV-2 não tem, aparentemente, tanto sucesso como o HIV-1 na transmissão homem-a-homem. Contudo, existem regiões da África Ocidental com elevada prevalência do tipo 2 do HIV (Diwan et al., 2013; Gottlieb, 2013; Prince et al., 2014; UNAIDS, 2014a, 2014b). Este facto tem suscitado na comunidade científica uma enorme curiosidade levando a algumas especulações no que diz respeito às causas deste fenómeno. As principais explicações encontradas estão relacionadas com as inúmeras guerras de independência, com o deslocamento e a migração para as cidades, com o

aumento da prostituição e com as injeções parentéricas durante a vacinação e tratamentos médicos que seguem as técnicas tradicionais não esterilizadas (Gottlieb, 2013; Valadas et al., 2009).

O que não parece suscitar qualquer tipo de dúvida é o facto de, desde 1990, se assistir a uma diminuição progressiva da prevalência do HIV-2 na África Ocidental enquanto acontece o inverso com o HIV-1, que tem vindo a aumentar nesta região. No entanto, as razões que estão na origem destes acontecimentos estão, ainda, por esclarecer (Gottlieb, 2013; Kong, Li, Bibollet-Ruche, et al., 2012; Prince et al., 2014).

Com o objetivo de tentar perceber esta questão, foi realizado um estudo que compara a dinâmica populacional do HIV-1 com a do HIV-2 e caracteriza a transmissão do HIV-2 numa zona rural da Guiné-Bissau. Neste estudo participaram 103 indivíduos infetados com o HIV-2 e 56 indivíduos infetados com o HIV-1. Os ensaios realizados mostraram percursos similares para o HIV-2 e, mais tarde, para o HIV-1 (aproximadamente 20 anos depois). Após uma introdução inicial com uma fase *lag* (de adaptação ao meio), ocorreu um crescimento exponencial atingindo-se, por fim, a fase estacionária em ambos os vírus. Uma possível explicação para a diminuição da prevalência do HIV-2 após a introdução do HIV-1, que segue o mesmo percurso do HIV-2, é a exclusão competitiva do HIV-2 pelo HIV-1 dado que o HIV-1 foi introduzido posteriormente na comunidade (T. I. de Silva et al., 2013; Gottlieb, 2013). Paralelamente, um estudo que precedeu o estudo supra referido sugeriu que o decréscimo na prevalência do HIV-2 na África Ocidental pode ser explicado pela existência de competição exclusiva e por alterações comportamentais da sociedade a nível sexual numa proporção que ronda os 30% e os 70%, respetivamente. (Gottlieb, 2013; Schmidt et al., 2008).

De acordo com alguns autores, a compreensão mais aprofundada das dinâmicas da epidemia por HIV-2 que incluem o seu crescimento gradual na primeira metade do século XX, a sua propagação exponencial na África Ocidental, a fase estacionária em áreas endémicas com elevada prevalência e, ainda, o seu declínio ao longo dos últimos vinte anos, pode servir como modelo para a pandemia por HIV-1. É, igualmente, de notar que a análise e a adaptação dos fatores que levaram ao declínio da epidemia por HIV-2 pode ser preponderante para se conseguir alcançar os mesmos fatores para a infeção por HIV-1 (Gottlieb, 2013; Prince et al., 2014).

Para além disso, tal como foi referido anteriormente, o HIV-1 apresenta uma taxa de mortalidade consideravelmente superior à do HIV-2, o que faz com que, para além de todos os outros fatores, seja consensual para a comunidade científica que o HIV-2 pode constituir um importante modelo no que respeita à patogénese do HIV-1 e que o conhecimento das respostas imunitárias desencadeadas pela infeção por HIV-2 pode ser útil no desenvolvimento de uma vacina contra o HIV-1 (Diwan et al., 2013; Esbjörnsson et al., 2012; Gottlieb, 2013; Prince et al., 2014).

Existem inúmeras evidências que suportam que na infeção por HIV-2, em oposição ao que sucede na infeção por HIV-1, as células T CD4+ possuem uma melhor capacidade proliferativa, diferenciam-se menos e induzem respostas mais polifuncionais. Em adição, as respostas imunitárias na infeção por HIV-2 parecem ser menos imunopatogénicas. (Duvall et al., 2009; Hegedus et al., 2014).

Existem, ainda, outros estudos que demonstram o efeito protetor do HIV-2 contra a infeção por HIV-1 através da observação de que a carga viral do HIV-1 é inferior em indivíduos coinfectados com o HIV-1 e com o HIV-2 face aos indivíduos infetados apenas com HIV-1. Nos indivíduos infetados apenas com o HIV-1 ou com o HIV-2, verificou-se que a carga viral é 28 vezes superior nos indivíduos infetados com o HIV-1. Relativamente aos indivíduos duplamente infetados, não existem diferenças tão significativas na carga viral dos dois tipos de HIV. A carga viral do HIV-1 é 4 vezes superior à carga viral do HIV-2 (Andersson et al., 2000; Kannangara et al., 2005).

Por outro lado, as similaridades existentes entre o HIV-1 e o HIV-2, se exploradas, podem constituir uma abordagem para o desenvolvimento de uma vacina que pode, eventualmente, atuar contra o HIV-1. O princípio subjacente a esta abordagem é o desenvolvimento de uma vacina que tem por base as sequências genéticas conservadas presentes no HIV-2. Assim, como existe proteção cruzada contra o HIV-1 por parte do HIV-2, é possível que uma vacina contra o HIV-2 possa também ter como alvo o HIV-1 (Diwan et al., 2013; Jennes et al., 2008; Kong, Li, Bibollet-Ruche, et al., 2012; Kong, Li, Georgiev, et al., 2012; Ozkaya Sahin et al., 2012). De acordo com um estudo que analisou as secreções cervicovaginais de várias mulheres, verificou-se que foram produzidas respostas pela IgA para os antígenos do invólucro do HIV-2 num terço das mulheres infetadas, traduzindo-se numa carga viral baixa comparativamente ao HIV-1. Para além

disso, verificaram-se também reações cruzadas pela IgG e IgA contra antígenos heterólogos do invólucro do HIV-2, o que não se verificou no HIV-1 (Diwan et al., 2013).

A ajuda de futuras estratégias de bioinformática pode ter um papel muito importante no que diz respeito à obtenção de uma vacina baseada neste tipo de abordagem, na medida em que, estas estratégias economizam muito tempo e energia, elementos fundamentais em ensaios laboratoriais (Diwan et al., 2013).

A compreensão da imunopatogénese do HIV-2 tem sido alvo de uma enorme curiosidade na comunidade científica precisamente pelo facto do HIV-2 apresentar uma infecciosidade atenuada. Deste modo, foram realizados vários estudos que têm enfatizado a forte resposta dos anticorpos contra os antígenos codificados pelo gene *env*, resposta essa que é desenvolvida pelas pessoas que se encontram infetadas. No entanto, há que ter em conta que a amplitude da reação por parte dos anticorpos neutralizantes varia nos dois tipos de HIV (Diwan et al., 2013).

O facto da maioria das infeções por HIV-2 serem atenuadas, quando comparadas com a infeção por HIV-1, pode ser explicado pela presença de um controlo imunitário reforçado. A maioria dos indivíduos infetados com o HIV-2 produz fortes anticorpos amplamente neutralizantes durante a fase crónica da doença, ao contrário dos indivíduos infetados com o HIV-1 (T. I. de Silva et al., 2012; Ozkaya Sahin et al., 2012; Rocha et al., 2013; Rodriguez et al., 2007).

Existem evidências recentes, a partir de vírus isolados de indivíduos infetados com o HIV-2 em estado avançado da doença, que demonstram que os anticorpos neutralizantes apresentam um papel bastante importante na evolução e patogénese da infeção por HIV-2 (T. I. de Silva et al., 2012; Rocha et al., 2013).

Apesar da infeção por HIV-2 se caracterizar por uma quantidade reduzida de vírus circulante, caracteriza-se também por uma diminuição bastante considerável das células B de memória. Um estudo realizado demonstrou que, mesmo na ausência de virémia detetável, a doença prolongada por HIV origina danos na homeostase das células B de memória que, por serem irreversíveis, não podem ser revertidos nem mesmo pela TARV (Tendeiro, Fernandes, et al., 2012).

5. Estudos que avaliam a capacidade protetora do HIV-2 contra a infecção por HIV-1

A hipótese de que o HIV-2 pode conferir proteção contra a infecção pelo HIV-1 levou ao desenvolvimento de inúmeros estudos. Alguns estudos sugeriram que existe mesmo um efeito protetor por parte do HIV-2 e, pelo contrário, outros estudos contrariam este efeito (Gottlieb, 2013; Prince et al., 2014).

Seguidamente são abordados mais pormenorizadamente alguns desses estudos.

5.1.1. O HIV-2 protege contra a infecção por HIV-1?

Um primeiro estudo epidemiológico prospetivo realizado no Senegal sugeriu que a infecção provocada pelo HIV-2 pode ser protetora contra uma posterior infecção por HIV-1 (Aaby et al., 1997; Günthard et al., 2009; Heitzinger et al., 2013). Deste modo, durante 9 anos, seguiu-se um grupo de prostitutas em Dakar em que as seropositivas para o HIV-2 evidenciavam um risco relativo de aquisição da infecção por HIV-1 apenas de 0.32 face às prostitutas seronegativas para HIV-2. O estudo foi controlado por parâmetros que incluíam: o ano civil, a nacionalidade e a duração da prostituição. Para além disso, o estudo foi também controlado pela presença de outras doenças sexualmente transmissíveis (DST) que poderiam ser utilizadas como indicadores da atividade sexual (Aaby et al., 1997; Heitzinger et al., 2013).

Paralelamente, num segundo estudo, foram realizados inquéritos serológicos na Guiné-Bissau nos anos de 1987, 1989 e 1992 em pessoas residentes em 100 casas de três distritos da capital. Esta comunidade apresentava a mais elevada prevalência de HIV-2 nos adultos alguma vez registada, ou seja, 8.9% em 1987 e 10.1% em 1989 (Aaby et al., 1997; Gottlieb, 2013; Prince et al., 2014).

Em 1987, dentro dos 652 adultos testados, não existiam casos de infecção por HIV-1 e em 1989 também não se observaram resultados positivos para o HIV-1. Todavia, em 1992, quatro dos indivíduos testados tanto em 1987 como em 1989 estavam infetados com o HIV-1, sendo que, três desses indivíduos já tinham sido anteriormente diagnosticados com HIV-2. Agrupando por idades e por tempo de acompanhamento

verificou-se que os indivíduos já infetados pelo HIV-2 eram 19.8 vezes mais suscetíveis de adquirirem a infeção por HIV-1 comparativamente aos 470 indivíduos não infetados com o HIV-2 (Aaby et al., 1997).

Assim, neste último estudo realizado na Guiné-Bissau, os autores concluíram que o facto de se ter observado um risco mais elevado de aquisição da infeção por HIV-1 em indivíduos previamente infetados com HIV-2 se deve, provavelmente, a um comportamento sexual mais arriscado. Este estudo veio, de certa forma, contrariar o primeiro na medida em que não confirma a atividade protetora do HIV-2 contra o HIV-1 (Aaby et al., 1997).

5.1.2. Inibição da progressão da doença por HIV-1 pela infeção contemporânea por HIV-2

De 6 de fevereiro de 1990 a 31 de dezembro de 2007 foi realizado um estudo prospetivo onde se analisaram dados de 223 intervenientes que foram infetados com o HIV-1 ou com ambos, HIV-1 e HIV-2. Dos 223 participantes, 191 foram infetados apenas com o HIV-1 (161 homens e 30 mulheres) e 32 foram infetados com o HIV-1 e com o HIV-2 (26 homens e 6 mulheres). Todos os participantes tinham um emprego regular na polícia da Guiné-Bissau (Esbjörnsson et al., 2012).

Este estudo pretendia comparar a progressão da doença entre os indivíduos infetados com ambos os vírus, HIV-1 e HIV-2, com a dos indivíduos infetados apenas com o HIV-1. Após, aproximadamente, 20 anos de estudo, os autores concluíram que os indivíduos infetados tanto com o HIV-1 como com o HIV-2 tinham uma progressão da doença, entenda-se SIDA, significativamente mais lenta quando comparados com os indivíduos infetados apenas com o HIV-1. Concluíram, também, que isso acontece quando a infeção por HIV-2 precede a infeção por HIV-1. Ou seja, *in vivo*, o HIV-2 produz um efeito inibitório na taxa de progressão da doença por HIV-1. Este efeito inibitório foi evidente em múltiplos aspetos tais como: no tempo que decorre até atingir a SIDA, no número de células do sistema imunitário e no nível de evolução molecular do HIV-1 (Esbjörnsson et al., 2012; Prince et al., 2014).

No que diz respeito ao tempo que decorre até se atingir a SIDA, os autores observaram que nos indivíduos infetados apenas com o HIV-1 o tempo que decorre é, em

média, de 68 meses e que nos indivíduos infetados com o HIV-1 e com o HIV-2 o tempo é, em média, de 104 meses (Esbjörnsson et al., 2012).

Relativamente às células do sistema imunitário, os autores verificaram uma percentagem de células T CD4+ consideravelmente superior nos participantes que foram infetados com o HIV-1 e com o HIV-2. Por sua vez, o aumento da percentagem de células T CD8+ ao longo do tempo foi mais lento nos indivíduos infetados com os dois vírus do que nos indivíduos infetados exclusivamente com o HIV-1. Esta observação sugeriu que a evolução da doença pode estar relacionada com a ativação das células do sistema imunitário (Esbjörnsson et al., 2012).

A nível da evolução molecular do HIV-1, os autores constataram que a diversidade do HIV-1 foi significativamente mais baixa nos participantes infetados com o HIV-1 e com o HIV-2 do que nos participantes infetados apenas com o HIV-1. Deste modo, esta observação vem suportar a hipótese de que a progressão mais lenta da doença nos indivíduos duplamente infetados está relacionada com os efeitos inibitórios na fase inicial da infecção por HIV-1, que se traduzem numa reduzida diversidade inicial do HIV-1 e numa fase assintomática mais longa (Esbjörnsson et al., 2012).

5.1.3. Superinfecção pelo HIV-1 numa mulher infetada com o HIV-2 com subsequente controlo da virémia plasmática do HIV-1

No ano de 2001, em dezembro, uma mulher grávida com 39 anos de idade deu entrada num hospital de Benin com contrações prematuras. Foi-lhe realizado um teste de despistagem para o HIV (HIV-1/2/O) e os resultados revelaram uma reação positiva apenas para o HIV-2. Não lhe foram, portanto, detetadas moléculas de ARN de HIV-1 no plasma (Günthard et al., 2009).

Todavia, o diagnóstico da infecção pelo HIV-2 já tinha sido feito em dezembro de 1999 e, na ausência de TARV, o bebé acabou por nascer por cesariana, em dezembro de 2001, permanecendo livre da infecção por HIV (Günthard et al., 2009).

Com o intuito de monitorizar a virémia do HIV-2 foi realizado um ensaio, em janeiro de 2002, que permitia avaliar a atividade da enzima transcriptase reversa. Foi detetada uma atividade de 1266 nU/mL que corresponde a aproximadamente 24 000

cópias de ARN de HIV por mililitro. Como os testes realizados inicialmente revelaram resultados negativos para a presença de HIV-1 no plasma, assumiu-se que a atividade da transcriptase reversa se devia apenas ao HIV-2 (Günthard et al., 2009).

Na contagem inicial de células T CD4 verificou-se que existiam 729 células/ μ L, que correspondia a 48% do total de células T CD4. Posteriormente, em maio de 2002, houve um decréscimo repentino do número de células T CD4, atingindo-se o valor de 340 células/ μ L que representava, por sua vez, 26% da sua totalidade. Subsequentemente, houve um aumento no número de células T CD4, tendo-se registado um valor de 578 células/ μ L (27% das células T CD4). Este valor manteve-se relativamente estável durante os cinco anos que se seguiram, variando apenas entre 440 e 600 células/ μ L (Günthard et al., 2009).

Contudo, em novembro de 2005, foi realizado um teste que detetou a presença de ARN de HIV-1 no plasma. O ensaio foi repetido mas os resultados positivos confirmaram-se. Deste modo, na altura surgiram algumas dúvidas tais como se este seria um caso raro de infeção por HIV-2, se o diagnóstico serológico estaria correto ou se seria um caso de coinfeção por HIV-1 e HIV-2 (Günthard et al., 2009).

Após amplificação de um fragmento de HIV-1 procedeu-se à sua sequenciação e à análise filogenética que indicaram a existência de uma relação com o subtipo A do HIV-1. Assim, procedeu-se à análise retrospectiva das amostras guardadas. As análises de maio de 2002 mostravam que, para além da infeção por HIV-2 já existente, existia também uma infeção recentemente adquirida por HIV-1. Os níveis de ARN de HIV-1 no plasma eram baixos e estavam na ordem das 540 cópias/mL (Günthard et al., 2009).

Utilizando as amostras de janeiro de 2002, foi executado um teste para quantificar o ARN de HIV-1 no plasma, tendo-se obtido um valor de 722 cópias/mL. De seguida, em outubro de 2002 houve um aumento do ARN do HIV-1 no plasma para 1760 cópias/mL que, em janeiro de 2005, sofreu um decréscimo para 63 cópias/mL e que se manteve entre as 60 e as 660 cópias/mL até ao fim de julho de 2008 (Günthard et al., 2009).

Durante o período de observação, que decorreu durante seis anos, não se verificou nenhuma doença associada ao HIV e não foi realizada TARV. A partir das análises filogenéticas concluiu-se que a superinfeção se deve a uma forma recombinante do HIV-1 dos subtipos AG e que a infeção inicial se deve ao HIV-2 do subtipo B. É, ainda,

importante referir que antes e logo após a superinfecção por HIV-1 não existiam anticorpos neutralizantes contra o HIV-1. Assim, era notória a incapacidade do HIV-2 promover uma resposta neutralizante cruzada contra o HIV-1. Porém, alguns meses após a infecção pelo HIV-1, verificou-se uma resposta neutralizante significativa contra o HIV-1 (Günthard et al., 2009).

Perante todos os resultados obtidos ao longo dos seis anos de estudo, os autores concluíram que se tratava, indubitavelmente, de um caso de superinfecção por HIV-1 numa mulher infetada previamente com o HIV-2. Como a carga viral inicial foi baixa e como houve um aumento e logo de seguida um decréscimo coincidente com a infecção primária pelo HIV-1, os autores pensam que a superinfecção ocorreu entre dezembro de 2001 e janeiro de 2002 (Günthard et al., 2009).

Neste caso, como o diagnóstico da infecção pelo HIV-2 ocorreu em dezembro de 1991, a hipótese de coinfeção foi descartada. Para além disso, a paciente não registou qualquer sinal ou sintoma de uma infecção aguda provocada por um retrovírus. Desta forma, o estudo deste caso veio demonstrar que, na presença de um decréscimo repentino das células T CD4, há que considerar a possibilidade de superinfecção por HIV-1 que terá, naturalmente, de ser analisada (Günthard et al., 2009).

Este é um caso peculiar na medida em que a paciente, para além de ter uma fase aguda da infecção pelo HIV-1 assintomática e com carga viral reduzida, evidencia níveis baixos de ARN no plasma durante os 6 anos sem qualquer tipo de tratamento. No fundo, a superinfecção por HIV-1 apenas conduziu a uma diminuição do número de células T CD4, não se observando nenhuma progressão da doença durante o período de estudo. Assim, este caso assemelha-se, e muito, à infecção crónica provocada pelo HIV-2 e não à infecção por HIV-1. Como não foram detetados anticorpos de neutralização cruzada contra o HIV-1, cuja produção tenha sido induzida pelo HIV-2, significa que existem outros mecanismos que estão na base do decurso benigno da doença neste caso (Günthard et al., 2009).

5.1.4. Taxas de mortalidade em pessoas duplamente infetadas com o HIV-1/2 e em pessoas infetadas com o HIV-1 ou com o HIV-2: uma revisão sistemática e meta-análise

Com o intuito de relacionar e resumir os dados disponíveis acerca das taxas de mortalidade dos indivíduos duplamente infetados e dos indivíduos infetados só com o HIV-1 ou só com o HIV-2 foi realizada uma revisão sistemática e meta-análise de estudos que compararam pelo menos dois grupos (Prince et al., 2014).

Nesta análise comparativa e meta-análise os autores verificaram que a taxa de mortalidade dos indivíduos infetados exclusivamente com o HIV-2 é significativamente mais baixa do que as taxas de mortalidade dos indivíduos duplamente infetados e infetados apenas com o HIV-1. Aliás, a taxa de mortalidade dos indivíduos com a dupla infeção não se mostrou muito diferente da taxa de mortalidade dos indivíduos infetados só como HIV-1. Além disso, nem mesmo os estudos que incluíam indivíduos numa fase inicial da infeção por HIV evidenciaram diferenças nas taxas de mortalidade entre os indivíduos duplamente infetados e os indivíduos infetados apenas com o HIV-1 (Prince et al., 2014).

O primeiro grande estudo realizado com o objetivo de avaliar a epidemiologia do HIV-2 sugeriu que a taxa de mortalidade do HIV-2 é mais reduzida do que a do HIV-1 e, desde então, foram realizados outros estudos que acabaram por corroborar o estudo inicial. A explicação que melhor justifica esta diferença é o facto da carga viral nos indivíduos infetados com o HIV-2 ser bastante mais baixa do que nos indivíduos infetados com o HIV-1. Deste modo, estes factos sugeriam que a infeção provocada pelo HIV-2 pode ser protetora contra a infeção por HIV-1. No entanto, este efeito protetor não foi observado em estudos posteriores. Em contraste, a meta-análise demonstrou que os indivíduos infetados com o HIV-2 têm uma maior suscetibilidade de adquirirem a infeção por HIV-1 do que os indivíduos que não se encontram infetados com o HIV (Prince et al., 2014).

Apesar de muitos estudos laboratoriais sugerirem que o HIV-2 exerce um efeito inibitório na progressão da doença por HIV-1 em indivíduos duplamente infetados, existem outros estudos que não encontraram qualquer efeito do HIV-2 na carga viral do HIV-1. Por sua vez, esta meta-análise não verificou a existência de um efeito protetor

pelo HIV-2 nem diferenças consideráveis entre as taxas de mortalidade dos indivíduos duplamente infetados e dos indivíduos infetados apenas pelo HIV-1 (Prince et al., 2014).

A conclusão retirada desta meta-análise veio, de certa forma, contrariar os resultados do estudo de Esbjörnsson et al. (2012) que sugeria que a progressão da doença provocada pelo HIV-1 era inibida pelo HIV-2 nos indivíduos infetados com ambos os vírus, HIV-1 e HIV-2. Assim, esta meta-análise afirma que não é possível retirar conclusões definitivas a partir da literatura atualmente existente e que, por isso, através da medição das taxas de mortalidade, não existem evidências de que o HIV-2 seja capaz de impedir a progressão da infecção por HIV-1 nos indivíduos duplamente infetados (Hegedus et al., 2014; Prince et al., 2014).

Não obstante a esta meta-análise, o estudo de Esbjörnsson et al. (2012) mostra que a infecção por HIV-2 protege contra a progressão da infecção por HIV-1. Deste modo, a identificação dos fatores que são responsáveis por esta capacidade protetora pode levar ao desenvolvimento de uma vacina terapêutica que se administraria aos indivíduos infetados com o HIV-1 (Esbjörnsson et al., 2012).

6. Estratégias que utilizam o HIV-2 como modelo para uma vacina contra o HIV-1

As abordagens convencionais, por vezes, são incapazes de ultrapassar as complicações que surgem durante o processo de desenvolvimento de novas vacinas. Por isso, o futuro do desenvolvimento de novas vacinas passa pela combinação das abordagens convencionais com as abordagens atuais que incluem: a utilização de ferramentas bioinformáticas, servidores *web* e *softwares* (Diwan et al., 2013).

Assim, a combinação das abordagens convencionais com as abordagens atuais permite a previsão de uma vacina contra o HIV-2 que irá, certamente, auxiliar no desenvolvimento de uma vacina contra a SIDA e contra o HIV-1 permitindo, por sua vez, um melhor aproveitamento do tempo e uma minimização dos gastos energéticos laboratoriais (Figura 6) (Diwan et al., 2013).

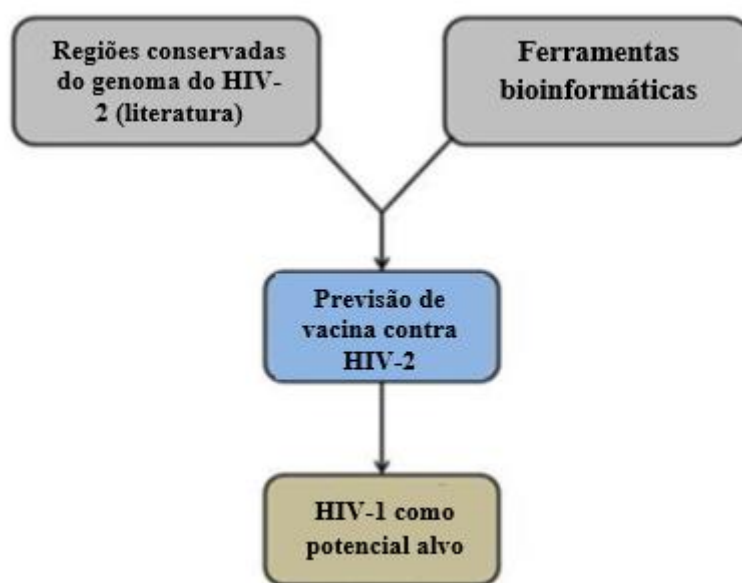


Figura 6: Aplicação de ferramentas bioinformáticas na previsão de uma vacina contra o HIV-2.

Adaptado de Diwan et al. (2013).

Foi recentemente desenvolvido o servidor NEP (*Neutralization-based Epitope Prediction*) que permite ao seu utilizador prever o epitopo para determinado anticorpo recorrendo a sequências de alinhamento de antígenos para várias estirpes virais e a informações sobre a neutralização anticorpo-antígeno das várias estirpes (Chuang, Liou, Kwong, & Georgiev, 2014).

Marcelino et. al (2010) demonstraram pela primeira vez que é possível, através da vacinação com um vetor-*prime* do vírus vacínia/rpC2-C3, induzir a produção de respostas potentes e amplamente neutralizantes para o HIV-2 em ratos. Neste estudo, todas as substâncias imunogénicas foram obtidas a partir do *env* do isolado HIV-2ALI, dado que é o isolado primário que melhor representa o HIV-2 do grupo mais prevalente (grupo A), que usa maioritariamente o recetor CCR5 (principal recetor nos indivíduos infetados por HIV-2) e que é independente do recetor CD4 tal como a maioria dos isolados primários. Deste modo, foi produzido um vírus vacínia recombinante, rVV/ALI, que expressou níveis elevados da glicoproteína percursora do invólucro (gp140) e que, posteriormente, deu origem às glicoproteínas de superfície (gp125) e transmembranar (gp36). Seguidamente, procederam à inserção de um codão *stop* no fim da região que codifica para o *env* com o intuito de haver uma maior produção da gp125. Assim, o gene mutado codificou para uma gp125 truncada (gp125t), que possuía menos 26 aminoácidos na região C5. Verificou-se, portanto, a existência de uma produção elevada de gp125t pelo rVV/ALIM2, mas a ausência de produção das glicoproteínas gp140 e gp36. A gp125 apresentou uma afinidade mínima para o recetor CD4, o que indica que as glicoproteínas do invólucro expressas pelo vírus vacínia mantêm tanto a estrutura como a função do isolado original. Todos os ratos foram imunizados com rVV/ALIM2, gp125t ou rpC2-C3. Os ratos imunizados apenas com a rpC2-C3 produziram uma forte resposta contra a rpC2-C3 mas não produziram anticorpos contra a gp125t. Os ratos imunizados apenas com a gp125t produziram uma forte resposta IgG contra a gp125t mas não contra a rpC2-C3. Por outro lado, os ratos imunizados com o rVV/ALIM2 e com a rpC2-C3 produziram anticorpos IgG que se ligaram fortemente à rpC2-C3 e à gp125t. Seguidamente, as propriedades neutralizantes dos ratos foram testadas em nove isolados de HIV-2 heterólogos do grupo A extremamente divergentes (6 usavam o co-recetor CCR5 e 3 o co-recetor CXCR4). Os ratos imunizados apenas com rpC2-C3 ou gp125t não produziram anticorpos neutralizantes. Por sua vez, os ratos inoculados só com o rVV/ALIM2, com rVV/ALIM2 e rpC2-C3 ou com rVV/ALIM2 e gp125t, produziram anticorpos neutralizantes para os isolados R5. No entanto, os ratos imunizados com rVV/ALIM2 e rpC2-C3 exibiram a resposta neutralizante mais potente e mais ampla, tendo este soro a capacidade de neutralizar todos os isolados com o fenótipo CCR5. Pelo contrário, nenhuma das substâncias imunogénicas conseguiu induzir a produção de anticorpos neutralizantes contra os isolados X4. Desta forma, os resultados obtidos demonstraram que é possível induzir respostas potentes e amplamente neutralizantes contra o HIV-2 a

partir da vacinação com o vetor-*prime* do vírus vacínia/rpC2-C3, que direciona os anticorpos para as regiões C2, V3 e C3 do invólucro. Este estudo demonstrou, ainda, que o *loop* V3 é o principal alvo de neutralização no invólucro do HIV-2 (Marcelino et al., 2010). Esta pode ser uma estratégia para o desenvolvimento de uma vacina contra o HIV-1, contudo é importante considerar a hipótese desta estratégia não resultar uma vez que os epitopos neutralizantes de largo espectro no HIV-1 são mais diversificados do que no HIV-2 e também porque o HIV-1 consegue escapar, normalmente, aos anticorpos neutralizantes anti-V3 (Isik et al., 2014; Zhang et al., 2013).

Todavia, recentemente foram descobertos bNAbs de família distintas (PGT 121-123/PGT 133-134/10-1074, PGT 125-128/PGT 130-131 e PGT 135-137) que se ligam a uma região altamente glicosilada em torno da base do *loop* V3 do invólucro do HIV-1. Estes anticorpos demonstraram uma eficácia elevada e, apesar de pertencerem a famílias distintas, todos interagem com o glicano Asn332 (N332) presente na maioria dos isolados de HIV-1. Como tal, os resultados deste estudo sugerem que esta pode ser uma boa estratégia para o desenvolvimento de uma vacina eficaz contra o HIV-1 (Garces et al., 2014).

7. Conclusão

Embora tenha havido uma diminuição na incidência e na prevalência da infeção por HIV-1 nos últimos tempos, o HIV-1 continua a ser responsável por um elevado número de mortes a nível mundial. Deste modo, a conceção de uma vacina eficaz contra o HIV-1 é uma necessidade urgente para que se consiga travar, de alguma forma, esta pandemia.

Atualmente, ainda não existe nenhuma vacina segura e eficaz contra o HIV-1. Isto deve-se, em grande parte, ao facto do HIV-1 ser um alvo difícil e de apresentar inúmeros obstáculos à conceção de uma vacina. O principal obstáculo do HIV-1 é a sua enorme variabilidade genética, contudo, a extensa glicosilação da gp120, a elevada diversidade na estrutura primária das proteínas do invólucro, a capacidade que o HIV-1 tem de infetar e diminuir o número das células cruciais para o funcionamento do sistema imunitário, o estabelecimento de reservatórios víricos, entre outros, também constituem barreiras ao desenvolvimento de uma vacina eficaz. Assim, dada a sua enorme variabilidade, uma vacina eficaz contra determinado subtipo de HIV-1, pode ser ineficaz contra outros subtipos, pelo que a criação de uma vacina global para o HIV-1 se torna bastante difícil.

Nos últimos dois anos tem-se assistido a uma série de progressos científicos relacionados com o desenvolvimento de uma vacina eficaz contra o HIV-1. As estratégias a seguir passam pelo desenvolvimento de novas substâncias imunogénicas capazes de contornar a diversidade de respostas das células T, pela indução de respostas imunitárias mais abrangentes e mais duradouras com o intuito de melhorar a eficácia do ensaio RV144 (que tinha obtido uma eficácia de 31.2%) e pelo desenvolvimento de estratégias que induzam a produção de bNAbs.

Os bNAbs apresentam características muito peculiares e são extremamente difíceis de induzir. Apenas 25-30% dos indivíduos infetados com o HIV-1 conseguem desenvolver estes anticorpos, em média, 2 a 4 anos após a infeção inicial e, para além disso, só 2-4% desses indivíduos produzem bNAbs capazes de neutralizar a maioria das estirpes de HIV-1.

O Env é o único alvo dos bNAbs e caracteriza-se por várias propriedades que lhe permitem escapar à resposta destes anticorpos, o que justifica a inexistência de uma vacina baseada no Env do HIV-1 capaz de induzir imunidade protetora. Os quatro grandes

lugares de atuação dos bNAbs são: o local de ligação CD4, o *loop* V1-V2, a V3 e a região proximal externa da membrana da gp41.

Apesar dos dois tipos de HIV serem biologicamente semelhantes e de conduzirem ambos à SIDA, a infeção por HIV-2 caracteriza-se, face à infeção por HIV-1, por uma fase assintomática bastante mais longa; uma progressão para SIDA mais lenta; uma patogenicidade inferior; uma carga viral plasmática mais baixa; uma cinética de replicação viral diferente; um número mais elevado de células T CD4+; um decréscimo menos acentuado das células T CD4+ na fase aguda da infeção; uma ativação imunitária comparável em fases similares da doença; uma taxa de mortalidade por SIDA semelhante na fase crónica da infeção; uma taxa reduzida de transmissão vertical e, ainda, por uma taxa de transmissão sexual mais baixa.

Deste modo, todas as características enumeradas anteriormente contribuem para que a infeção por HIV-2 não evolua para SIDA na grande maioria das vezes e para o seu decorrer, de certa forma, mais atenuado e benigno quando comparado à infeção por HIV-1. Assim sendo, a compreensão dos fatores que se encontram efetivamente envolvidos no controlo da replicação viral e progressão da doença em indivíduos infetados com o HIV-2 pode impulsionar o desenvolvimento de estratégias capazes de prevenir e tratar a infeção por HIV-1.

Desde o início da década de 90 que se assiste a uma diminuição progressiva da prevalência do HIV-2 na África Ocidental, enquanto acontece o inverso com o HIV-1, que tem vindo a aumentar nesta região. Com o objetivo de tentar perceber esta questão, foi realizado um estudo que sugere que a diminuição da prevalência do HIV-2 após a introdução do HIV-1, que segue o mesmo percurso do HIV-2, se deve possivelmente a uma exclusão competitiva do HIV-2 pelo HIV-1.

Foram também realizados estudos com o intuito de avaliar a capacidade protetora do HIV-2 na infeção por HIV-1. Estes estudos demonstraram que os indivíduos infetados tanto com o HIV-1 como com o HIV-2 tinham uma progressão para SIDA significativamente mais lenta quando comparados com os indivíduos infetados apenas com o HIV-1. Com base neste estudo, o HIV-2 pode ser um modelo mais adequado para uma vacina terapêutica do que para uma vacina profilática.

Recentemente foi desenvolvido um estudo que demonstrou que é possível, através da vacinação com um vetor-*prime* do vírus vacínia/rpC2-C3, induzir a produção de respostas potentes e amplamente neutralizantes para o HIV-2 em ratos. Esta pode ser uma estratégia para o desenvolvimento de uma vacina contra o HIV-1, que pode não resultar uma vez que os epitopos neutralizantes de largo espectro no HIV-1 são mais diversificados do que no HIV-2 e também porque o HIV-1 consegue escapar, normalmente, aos anticorpos neutralizantes anti-V3.

Todavia, foram descobertos bNAbs de família distintas (PGT 121-123/PGT 133-134/10-1074, PGT 125-128/PGT 130-131 e PGT 135-137) que se ligam a uma região altamente glicosilada em torno da base do *loop* V3 do invólucro do HIV-1. Estes anticorpos demonstraram uma eficácia elevada e, apesar de pertencerem a famílias distintas, todos interagem com o glicano Asn332 (N332) presente na maioria dos isolados de HIV-1. Como tal, os resultados deste estudo sugerem que esta pode ser uma estratégia a seguir no desenvolvimento de uma vacina eficaz contra o HIV-1.

Não obstante, a ajuda de futuras estratégias de bioinformática pode ter um papel muito importante no que diz respeito à obtenção de uma vacina eficaz contra o HIV-1 a partir do HIV-2, na medida em que, estas estratégias economizam muito tempo e energia, que são elementos fundamentais em ensaios laboratoriais.

Paralelamente, foi recentemente desenvolvido o servidor NEP (*Neutralization-based Epitope Prediction*) que permite ao seu utilizador prever o epitopo para determinado anticorpo recorrendo a sequências de alinhamento de antígenos para várias estirpes virais e a informações sobre a neutralização anticorpo-antígeno das várias estirpes.

Para concluir, o desenvolvimento de uma vacina segura e eficaz contra o HIV-1 utilizando o HIV-2 como modelo pode estar perto de ser concretizado.

Bibliografia

- Aaby, P., Poulsen, A.-G., Larsen, O., Christiansen, C. B., Jensen, H., Melbye, M., ... Dias, F. (1997). Does HIV-2 protect against HIV-1 infection? *AIDS*, *11*, 939–940.
- Ahlers, J. D. (2014). All Eyes on the Next Generation of HIV Vaccines: Strategies for Inducing a Broadly Neutralizing Antibody Response. *Discovery Medicine*, *14*(94), 187–199.
- Ahmad, F., Hong, H. S., Jäckel, M., Jablonka, A., Lu, I.-N., Bhatnagar, N., ... Meyer-Olson, D. (2014). High frequencies of polyfunctional CD8⁺ NK cells in chronic HIV-1 infection are associated with slower disease progression. *Journal of Virology*.
- Alatrakchi, N., Damond, F., Matheron, S., Beretta-Tempelhoff, S., Campa, P., Carcelain, G., ... Autran, B. (2006). Proliferative, IFN γ and IL-2-producing T-cell responses to HIV-2 in untreated HIV-2 infection. *AIDS (London, England)*, *20*(1), 29–34.
- Andersson, S., Norregren, H., da Silva, Z., Biague, A., Bamba, S., Kwok, S., ... Albert, J. (2000). Plasma Viral Load in HIV-1 and HIV-2 Singly and Dually Infected Individuals in Guinea-Bissau, West Africa, *160*, 3286–3293.
- Antunes, F. (2011). Vacinação contra VIH. Em F. Antunes (Ed.), *Manual sobre sida* (pp. 595–601). Lisboa, Portugal: Permanyer Portugal.
- Arhel, N., Lehmann, M., Clau, K., Nienhaus, G. U., Piguet, V., & Kirchhoff, F. (2009). The inability to disrupt the immunological synapse between infected human T cells and APCs distinguishes HIV-1 from most other primate lentiviruses. *The Journal of Clinical Investigation*, 1–11.
- Azevedo-Pereira, J. M. (2011). Ciclo biológico de VIH. Em F. Antunes (Ed.), *Manual sobre sida* (pp. 13–29). Lisboa, Portugal: Permanyer Portugal.
- Bıçeroğlu, S. U., Altuğlu, İ., Zeka, A. N., & Gökengın, D. (2014). HIV-1 Subtype Distribution Determined by Phylogenetic Analysis of pol Gene Sequences and

- Automated Subtyping Tools among HIV-1 Isolates from the Aegian Region of Turkey, 48(3), 420–428.
- Blaak, H., van der Ende, M. E., Boers, P. H. M., Schuitemaker, H., & Osterhaus, A. D. M. E. (2006). In vitro replication capacity of HIV-2 variants from long-term aviremic individuals. *Virology*, 353(1), 144–54.
- Boily, M., Baggaley, R. F., Wang, L., Masse, B., White, R. G., Hayes, R. J., & Alary, M. (2009). Heterosexual risk of HIV-1 infection per sexual act : systematic review and meta-analysis of observational studies, 9(February).
- Borrego, P., & Taveira, N. (2013). HIV-2 susceptibility to entry inhibitors. *AIDS Reviews*, 15(1), 49–61.
- Brégnard, C., Benkirane, M., & Laguet, N. (2014). DNA damage repair machinery and HIV escape from innate immune sensing. *Frontiers in Microbiology*, 5(April), 176.
- Campbell-Yesufu, O. T., & Gandhi, R. T. (2011). Update on human immunodeficiency virus (HIV)-2 infection. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 52(6), 780–7.
- Caoili, S. E. C. (2014). Epitopes for Protective Immunity Targeting Antigens of Pathogen and/or Host (EPITAPH): towards novel vaccines against HIV and other medically challenging infections. *Frontiers in Immunology*, 5, 1–3.
- Carvalho, a C., Valadas, E., França, L., Carvalho, C., Aleixo, M. J., Mendez, J., ... Barros, H. (2012). Population mobility and the changing epidemics of HIV-2 in Portugal. *HIV Medicine*, 13(4), 219–25.
- Cavaleiro, R., Baptista, A. P., Soares, R. S., Tendeiro, R., Foxall, R. B., Gomes, P., ... Sousa, A. E. (2009). Major depletion of plasmacytoid dendritic cells in HIV-2 infection, an attenuated form of HIV disease. *PLoS Pathogens*, 5(11), e1000667.
- Cavaleiro, R., Brunn, G. J., Albuquerque, A. S., Victorino, R. M. M., Platt, J. L., & Sousa, A. E. (2007). Monocyte-mediated T cell suppression by HIV-2 envelope proteins. *European Journal of Immunology*, 37(12), 3435–44.

- Cavaleiro, R., Tendeiro, R., Foxall, R. B., Soares, R. S., Baptista, A. P., Gomes, P., ... Sousa, A. E. (2013). Monocyte and myeloid dendritic cell activation occurs throughout HIV type 2 infection, an attenuated form of HIV disease. *The Journal of Infectious Diseases*, 207(11), 1730–42.
- Chanzu, N., & Ondondo, B. (2014). Induction of Potent and Long-Lived Antibody and Cellular Immune Responses in the Genitorectal Mucosa Could be the Critical Determinant of HIV Vaccine Efficacy. *Frontiers in Immunology*, 5(May), 202.
- Choi, J., Jeong, Y., Han, H.-S., & Lee, K. H. (2014). Microdevices for examining immunological responses of single cells to HIV. *Bioscience Reports*, 34(4), 501–511.
- Chuang, G.-Y., Liou, D., Kwong, P. D., & Georgiev, I. S. (2014). NEP: web server for epitope prediction based on antibody neutralization of viral strains with diverse sequences. *Nucleic Acids Research*, 42(Web Server issue), W64–71.
- Clavel, F., Guétard, D., Brun-Vézinet, F., Chamaret, S., Rey, M.-A., Santos-Ferreira, M. O., ... Montagnier, L. (1986). Isolation of a New Human Retrovirus African Patients with AIDS from West. *Science*, 233(343-346).
- Cohen, Y. Z., & Dolin, R. (2013). Novel HIV vaccine strategies: overview and perspective. *Therapeutic Advances in Vaccines*, 1(3), 99–112.
- Da Silva, Z. J., Oliveira, I., Andersen, A., Dias, F., Rodrigues, A., Holmgren, B., ... Aaby, P. (2008). Changes in prevalence and incidence of HIV-1, HIV-2 and dual infections in urban areas of Bissau, Guinea-Bissau: is HIV-2 disappearing? *AIDS (London, England)*, 22(10), 1195–202.
- De Silva, T. I., Aasa-Chapman, M., Cotten, M., Hué, S., Robinson, J., Bibollet-Ruche, F., ... Weiss, R. (2012). Potent autologous and heterologous neutralizing antibody responses occur in HIV-2 infection across a broad range of infection outcomes. *Journal of Virology*, 86(2), 930–46.
- De Silva, T. I., van Tienen, C., Onyango, C., Jabang, A., Vincent, T., Loeff, M. F. S. Van Der, ... Hué, S. (2013). Population dynamics of HIV-2 in rural West Africa:

- comparison with HIV-1 and ongoing transmission at the heart of the epidemic. *AIDS (London, England)*, 27(1), 125–34.
- Delany, I., Rappuoli, R., & De Gregorio, E. (2014). Vaccines for the 21st century. *EMBO Molecular Medicine*, 6(6), 708–20.
- Diwan, B., Saxena, R., & Tiwari, A. (2013). HIV-2 and its role in conglutinated approach towards Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS) Vaccine Development. *SpringerPlus*, 2(1), 7.
- Donovan, D. O., Ariyoshi, K., Milligan, P., & Ota, M. (2000). Maternal plasma viral RNA levels determine marked differences in mother-to-child transmission rates of HIV-1 and HIV-2 in The Gambia School working group on mother-child transmission of HIV, (June 1999).
- Drylewicz, J., Matheron, S., Lazaro, E., Damond, F., Bonnet, F., Simon, F., ... Thiébaud, R. (2008). Comparison of viro-immunological marker changes between HIV-1 and HIV-2-infected patients in France. *AIDS (London, England)*, 22(4), 457–68.
- Duvall, M. G., Loré, K., Blaak, H., Ambrozak, D. a, Adams, W. C., Santos, K., ... Koup, R. a. (2007). Dendritic cells are less susceptible to human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) infection than to HIV-1 infection. *Journal of Virology*, 81(24), 13486–98.
- Duvall, M. G., Precopio, M. L., Ambrozak, D. A., Jaye, A., Andrew, J., Whittle, H. C., ... Koup, A. (2009). NIH Public Access, 38(2), 350–363.
- Eholié, S., & Anglaret, X. (2006). Commentary: decline of HIV-2 prevalence in West Africa: good news or bad news? *International Journal of Epidemiology*, 35(5), 1329–30.
- Ensoli, B., Cafaro, A., Monini, P., Marcotullio, S., & Ensoli, F. (2014). Challenges in HIV Vaccine Research for Treatment and Prevention. *Frontiers in Immunology*, 5(September), 417.
- Esbjörnsson, J., Månsson, F., Kvist, A., Isberg, P.-E., Nowroozalizadeh, S., Biague, A. J., ... Medstrand, P. (2012). Inhibition of HIV-1 disease progression by

- contemporaneous HIV-2 infection. *The New England Journal of Medicine*, 367(3), 224–32.
- Espada de Sousa, A., & Victorino, R. (2011). Imunopatogénese e resposta imunitária. Em F. Antunes (Ed.), *Manual sobre sida* (pp. 55–76). Lisboa, Portugal: Permanyer Portugal.
- Faria, N. R., Hodges-Mameletzis, I., Silva, J. C., Rodés, B., Erasmus, S., Paolucci, S., ... Lemey, P. (2012). Phylogeographical footprint of colonial history in the global dispersal of human immunodeficiency virus type 2 group A. *The Journal of General Virology*, 93(Pt 4), 889–99.
- Faria, N. R., Rambaut, A., Suchard, M. A., Baele, G., Bedford, T., J. Ward, M., ... Lemey, P. (2014). The early spread and epidemic ignition of HIV-1 in human populations. *Science*, 346(6205), 56–61.
- FDA. (2014). Medical Devices: Human Immunodeficiency Virus (HIV). Disponível em <http://www.fda.gov/medicaldevices/productsandmedicalprocedures/invitrodiagnostics/homeusetests/ucm125797.htm> [Consultado a 03/09/2014]
- Feldmann, J., Leligdowicz, A., Jaye, A., Dong, T., Whittle, H., & Rowland-Jones, S. L. (2009). Downregulation of the T-cell receptor by human immunodeficiency virus type 2 Nef does not protect against disease progression. *Journal of Virology*, 83(24), 12968–72.
- Garces, F., Sok, D., Kong, L., McBride, R., Kim, H. J., Saye-Francisco, K. F., ... Wilson, I. A. (2014). Structural Evolution of Glycan Recognition by a Family of Potent HIV Antibodies. *Cell*, 159(1), 69–79.
- Ghys, P. D., Fransen, K., Diallo, M. O., Ettiegné-Traore, V., Coulibaly, I.-M., Yeboue, K. M., ... Laga, M. (1997). The associations between cervicovaginal HIV shedding, sexually transmitted diseases and immunosuppression in female sex workers in Abidjan, Côte d'Ivoire. *AIDS*, 11(12), 85–93.
- Gomes, P. (2003). Infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 2 (HIV-2). 3º *HIV-AIDS Virtual Congress*, 2, 1–21.

Gottlieb, G. S. (2013). Changing HIV epidemics: what HIV-2 can teach us about ending HIV-1. *AIDS (London, England)*, 27(1), 135–7.

Gottlieb, G. S., Hawes, S. E., Kiviat, N. B., & Sow, P. S. (2008). Differences in proviral DNA load between HIV-1-infected and HIV-2-infected patients. *AIDS*, 22(11), 1379–1380.

Gottlieb, G. S., Sow, P. S., Hawes, S. E., Ndoye, I., Redman, M., Coll-Seck, A. M., ... Kiviat, N. B. (2002). Equal plasma viral loads predict a similar rate of CD4+ T cell decline in human immunodeficiency virus (HIV) type 1- and HIV-2-infected individuals from Senegal, West Africa. *The Journal of Infectious Diseases*, 185(7), 905–14.

Greenspan, N. S. (2014). Design Challenges for HIV-1 Vaccines Based on Humoral Immunity. *Frontiers in Immunology*, 5(July), 335.

Grossman, Z., Meier-Schellersheim, M., Sousa, A. E., Victorino, R. M. M., & Paul, W. E. (2002). CD4 + T-cell depletion in HIV infection : Are we closer to understanding the cause ? *Nature Medicine*, 8(4), 319–323.

Gueudin, M., Bénard, A., Chêne, G., Matheron, S., & Simon, F. (2008). Significant differences in DNA viral load between HIV-1 and HIV-2 infected patients. *AIDS*, 22(12), 1519–1520.

Gueudin, M., Braun, J., Plantier, J.-C., & Simon, F. (2008). HIV-1 and HIV-2 produce different amounts of 2-long terminal repeat circular DNA in vitro. *AIDS*, 22(18), 2543–2545.

Gueudin, M., Damond, F., Braun, J., Taieb, A., Lemée, V., Plantier, J.-C., ... Simon, F. (2008). Differences in proviral DNA load between HIV-1-infected and HIV-2-infected patients. *AIDS (London, England)*, 22(11), 211–215.

Günthard, H. F., Huber, M., Kuster, H., Shah, C., Schüpbach, J., Trkola, A., & Böni, J. (2009). HIV-1 superinfection in an HIV-2-infected woman with subsequent control of HIV-1 plasma viremia. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 48(11), e117–20.

- Hanson, A., Sarr, A. D., Shea, A., Jones, N., Mboup, S., Kanki, P., & Cao, H. (2005). Distinct profile of T cell activation in HIV type 2 compared to HIV type 1 infection : Differential mechanism for immunoprotection. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 21(9), 791–798.
- Haynes, B. F., Moody, M. A., Alam, M., Bonsignori, M., Verkoczy, L., Ferrari, G., ... Kelsoe, G. (2014). Progress in HIV-1 vaccine development. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 134(1), 3–10.
- Hegedus, A., Nyamweya, S., Zhang, Y., Govind, S., Aspinall, R., Mashanova, A., ... Macallan, D. C. (2014). Protection versus pathology in aviremic and high viral load HIV-2 infection-the pivotal role of immune activation and T-cell kinetics. *The Journal of Infectious Diseases*, 210(5), 752–61.
- Heitzinger, K., Sow, P. S., Badiane, N. M. D., Gottlieb, G. S., I N'Doye, Toure, M., ... Hawes, S. E. (2013). Trends of HIV-1, HIV-2 and dual infection in women attending outpatient clinics in Senegal, 1990–2009. *NIH Public Access*, 23(10), 710–716.
- Holmgren, B., da Silva, Z., Vastrup, P., Larsen, O., Andersson, S., Ravn, H., & Aaby, P. (2007). Mortality associated with HIV-1, HIV-2, and HTLV-I single and dual infections in a middle-aged and older population in Guinea-Bissau. *Retrovirology*, 4, 85.
- ICTV. (2013). Virus Taxonomy: 2013 Release. Disponível em <http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp> [Consultado a 01/09/2014]
- Isik, G., Sliepen, K., van Montfort, T., & Sanders, R. W. (2014). Enhanced Immunogenicity of HIV-1 Envelope gp140 Proteins Fused to APRIL. *PloS One*, 9(9), e107683.
- Jakobsen, M. R., Mogensen, T. H., & Paludan, S. R. (2013). Caught in translation: innate restriction of HIV mRNA translation by a schlafen family protein. *Cell Research*, 23(3), 320–2.

- Jennes, W., Camara, M., Dièye, T., Mboup, S., & Kestens, L. (2008). Higher homologous and lower cross-reactive Gag-specific T-cell responses in human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) than in HIV-1 infection. *Journal of Virology*, 82(17), 8619–28.
- Joyce, M. G., Kanekiyo, M., Xu, L., Biertümpfel, C., Boyington, J. C., Moquin, S., ... Nabel, G. J. (2013). Outer domain of HIV-1 gp120: antigenic optimization, structural malleability, and crystal structure with antibody VRC-PG04. *Journal of Virology*, 87(4), 2294–306.
- Kannangara, S., DeSimone, J. a, & Pomerantz, R. J. (2005). Attenuation of HIV-1 infection by other microbial agents. *The Journal of Infectious Diseases*, 192(6), 1003–9.
- Khalid, M., Yu, H., Sauter, D., Usmani, S. M., Schmokel, J., Feldman, J., ... Kirchhoff, F. (2012). Efficient Nef-mediated downmodulation of TCR-CD3 and CD28 is associated with high CD4+ T cell counts in viremic HIV-2 infection. *Journal of Virology*, 86(9), 4906–20.
- Kong, R., Li, H., Bibollet-Ruche, F., Decker, J. M., Zheng, N. N., Gottlieb, G. S., ... Shaw, G. M. (2012). Broad and potent neutralizing antibody responses elicited in natural HIV-2 infection. *Journal of Virology*, 86(2), 947–60.
- Kong, R., Li, H., Georgiev, I., Changela, A., Bibollet-Ruche, F., Decker, J. M., ... Shaw, G. M. (2012). Epitope mapping of broadly neutralizing HIV-2 human monoclonal antibodies. *Journal of Virology*, 86(22), 12115–28.
- Lai, R. P. J., Hock, M., Radzimanowski, J., Tonks, P., Lutje Hulsik, D., Effantin, G., ... Weissenhorn, W. (2014). A fusion intermediate gp41 immunogen elicits neutralizing antibodies to HIV-1. *The Journal of Biological Chemistry*.
- Leligdowicz, A., Feldmann, J., Jaye, A., Cotten, M., Dong, T., McMichael, A., ... Rowland-Jones, S. (2010). Direct relationship between virus load and systemic immune activation in HIV-2 infection. *The Journal of Infectious Diseases*, 201(1), 114–22.

- Leligdowicz, A., & Yindom, L. (2007). Robust Gag-specific T cell responses characterize viremia control in HIV-2 infection. *Journal of Clinical Investigation*, 1–8.
- Lema, D., Garcia, A., & De Sanctis, J. B. (2014). HIV vaccines: a brief overview. *Scandinavian Journal of Immunology*, 80(1), 1–11.
- Lewthwaite, P., & Wilkins, E. (2009). Natural history of HIV/AIDS. *Medicine*, 37(7), 333–337.
- Lima, V. D., Thirumurthy, H., Kahn, J. G., Saavedra, J., Cárceres, C. F., & Whiteside, A. (2014). Modeling scenarios for the end of AIDS. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 59 Suppl 1(Suppl 1), S16–20.
- Lizeng, Q., Skott, P., Sourial, S., Nilsson, C., Andersson, S., Ehnlund, M., ... Bjorling, E. (2003). Serum immunoglobulin A (IgA)-mediated immunity in human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) infection. *Virology*, 308(2), 225–232.
- MacNeil, A., Sarr, A. D., Sankalé, J.-L., Meloni, S. T., Mboup, S., & Kanki, P. (2007). Direct evidence of lower viral replication rates in vivo in human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) infection than in HIV-1 infection. *Journal of Virology*, 81(10), 5325–30.
- Malherbe, D. C., Pissani, F., Sather, D. N., Guo, B., Pandey, S., Sutton, W. F., ... Haigwood, N. L. (2014). Envelope Variants Circulating as Initial Neutralization Breadth Developed in Two HIV-Infected Subjects Stimulate Multiclade Neutralizing Antibodies in Rabbits. *Journal of Virology*, (September).
- Månsson, F., Alves, A., Silva, Z. J. Da, Dias, F., Andersson, S., Biberfeld, G., ... Norrgren, H. (2007). Trends of HIV-1 and HIV-2 prevalence among pregnant women in Guinea-Bissau, West Africa: possible effect of the civil war 1998 1999. *Sexually Transmitted Infections*, 83(6), 463–7.
- Marcelino, J. M., Borrego, P., Nilsson, C., Família, C., Barroso, H., Maltez, F., ... Taveira, N. (2012). Resistance to antibody neutralization in HIV-2 infection occurs

- in late stage disease and is associated with X4 tropism. *AIDS (London, England)*, 26(18), 2275–84.
- Marcelino, J. M., Borrego, P., Rocha, C., Barroso, H., Quintas, A., Novo, C., & Taveira, N. (2010). Potent and broadly reactive HIV-2 neutralizing antibodies elicited by a vaccinia virus vector prime-C2V3C3 polypeptide boost immunization strategy. *Journal of Virology*, 84(23), 12429–36.
- Marchant, D., Neil, S. J. D., & McKnight, A. (2006). Human immunodeficiency virus types 1 and 2 have different replication kinetics in human primary macrophage culture. *The Journal of General Virology*, 87(Pt 2), 411–8.
- Marchetti, G., Tincati, C., & Silvestri, G. (2013). Microbial translocation in the pathogenesis of HIV infection and AIDS. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(1), 2–18.
- Marsden, M. D., & Zack, J. A. (2014). NIH Public Access, 23(14), 4003–4010.
- Martinez-Steele, E., Awasana, A. A., Corrah, T., Sabally, S., van der Sande, M., Jaye, A., ... Schim van der Loeff, M. F. (2007). Is HIV-2- induced AIDS different from HIV-1-associated AIDS? Data from a West African clinic. *AIDS (London, England)*, 21(3), 317–24.
- Martins, H. C. (2011). Distribuição mundial dos genótipos (epidemiologia molecular de VIH). Em F. Antunes (Ed.), *Manual sobre sida* (pp. 87–92). Lisboa, Portugal: Permanyer Portugal.
- Matusali, G., Potestà, M., Santoni, A., Cerboni, C., & Doria, M. (2012). The human immunodeficiency virus type 1 Nef and Vpu proteins downregulate the natural killer cell-activating ligand PVR. *Journal of Virology*, 86(8), 4496–504.
- Mcconville, C., Boyd, P., & Major, I. (2014). Clinical Medicine Insights : Women ' s Health, 120, 1–8.
- Medzhitov, R., & Janeway, C. (2000). Innate immunity. *The New England Journal of Medicine*, 343(5), 338–344.

- Michel, P., Balde, T., Sarthou, J., & Gougeon, M. (2000). Reduced Immune Activation and T Cell Apoptosis in Human Immunodeficiency Virus Type 2 Compared with Type 1 : Correlation of T Cell Apoptosis with b 2 Microglobulin Concentration and Disease Evolution. *The Journal of Infectious Diseases*, 181, 64–75.
- Ministério da Saúde. (2012). Portal da Saúde: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA). Disponível em <http://www.portaldasaude.pt/portal/conteudos/enciclopedia+da+saude/ministeriosaude/doencas/doencas+infecciosas/sida.htm> [Consultado a 03/09/2014]
- Miranda, A. M. (1999). *Infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana Aspectos Epidemiológicos e Clínicos*. Faculdade de Medicina do Porto.
- Miyake, A., Miyazaki, Y., Fujita, M., Nomaguchi, M., & Adachi, A. (2014). Role of polyproline motif in HIV-2 Vpx expression. *Frontiers in Microbiology*, 5, 1–2.
- Mogensen, T. H., Melchjorsen, J., Larsen, C. S., & Paludan, S. R. (2010). Innate immune recognition and activation during HIV infection. *Retrovirology*, 7, 54.
- Naif, H. M. (2013). Pathogenesis of HIV Infection. *Infectious Disease Reports*, 5(Suppl 1), e6.
- Nomaguchi, M., Doi, N., Matsumoto, Y., Sakai, Y., Fujiwara, S., & Adachi, A. (2012). Species tropism of HIV-1 modulated by viral accessory proteins. *Frontiers in Microbiology*, 3(July), 267.
- Nowroozalizadeh, S., Månsson, F., da Silva, Z., Repits, J., Dabo, B., Pereira, C., ... Jansson, M. (2010). Microbial translocation correlates with the severity of both HIV-1 and HIV-2 infections. *The Journal of Infectious Diseases*, 201(8), 1150–4.
- Oliveira, I., Andersen, A., Furtado, A., Medina, C., da Silva, D., da Silva, Z. J., ... Eugen-Olsen, J. (2012). Assessment of simple risk markers for early mortality among HIV-infected patients in Guinea-Bissau: a cohort study. *BMJ Open*, 2(6).
- OMS, & OIT. (2008). Glossário. Em *Directrizes conjuntas OIT / OMS sobre os serviços de saúde e a infecção VIH / sida* (pp. XI–XIV). Lisboa, Portugal: Bureau Internacional do Trabalho.

- Ondondo, B. O. (2014). The influence of delivery vectors on HIV vaccine efficacy. *Frontiers in Microbiology*, 5(August), 439.
- Ota, M. O. C., Donovan, D. O., Alabi, A. S., Yamuah, L. K., Gom, P. T. N., Harding, E., ... Whittle, H. C. (2000). Maternal HIV-1 and HIV-2 infection and child survival in The Gambia, (November 1999), 435–439.
- Ozkaya Sahin, G., Holmgren, B., da Silva, Z., Nielsen, J., Nowroozalizadeh, S., Esbjörnsson, J., ... Fenyö, E. M. (2012). Potent intratype neutralizing activity distinguishes human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) from HIV-1. *Journal of Virology*, 86(2), 961–71.
- Pádua, E. (2011). Epidemiologia da infecção por VIH-2. Em F. Antunes (Ed.), *Manual sobre sida* (pp. 93–100). Lisboa, Portugal: Permanyer Portugal.
- Pádua, E., Almeida, C., Nunes, B., Martins, H. C., Castela, J., Neves, C., & Paixão, M. . T. (2009). Assessment of mother-to-child HIV-1 and HIV-2 transmission: an AIDS reference laboratory collaborative study. *HIV Medicine*, 10(3), 182–90.
- Paixão, M. T., & Pádua, E. (2011). Transmissão da infecção por VIH. Em F. Antunes (Ed.), *Manual sobre sida* (pp. 105–113). Lisboa, Portugal: Permanyer Portugal.
- Peeters, M., D’Arc, M., & Delaporte, E. (2014). Origin and diversity of human retroviruses. *AIDS Reviews*, 16(1), 23–34.
- Pickering, S., Hué, S., Kim, E.-Y., Reddy, S., Wolinsky, S. M., & Neil, S. J. D. (2014). Preservation of tetherin and CD4 counter-activities in circulating Vpu alleles despite extensive sequence variation within HIV-1 infected individuals. *PLoS Pathogens*, 10(1), e1003895.
- Popper, S. J., Sarr, A. D., Travers, K. U., Gue, A., Mboup, S., Essex, M. E., & Kanki, P. J. (1999). Lower Human Immunodeficiency Virus (HIV) Type 2 Viral Load Reflects the Difference in Pathogenicity of HIV-1 and HIV-2. *The Journal of Infectious Diseases*, 1116–1121.

- Poulsen, a G., Aaby, P., Larsen, O., Jensen, H., Nauc  r, a, Lisse, I. M., ... Melbye, M. (1997). 9-year HIV-2-associated mortality in an urban community in Bissau, west Africa. *Lancet*, 349(9056), 911–4.
- Prince, P. D., Matser, A., van Tienen, C., Whittle, H. C., & Schim van der Loeff, M. F. (2014). Mortality rates in people dually infected with HIV-1/2 and those infected with either HIV-1 or HIV-2: a systematic review and meta-analysis. *AIDS (London, England)*, 28(4), 549–58.
- Rabinovich, S., Powell, R. L. R., Lindsay, R. W. B., Yuan, M., Carpov, A., Wilson, A., ... Parks, C. L. (2014). A Novel, Live-Attenuated Vesicular Stomatitis Virus Vector Displaying Conformationally Intact, Functional HIV-1 Envelope Trimers That Elicits Potent Cellular and Humoral Responses in Mice. *PloS One*, 9(9), e106597.
- Ringe, R., & Bhattacharya, J. (2013). Preventive and therapeutic applications of neutralizing antibodies to Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1). *Therapeutic Advances in Vaccines*, 1(2), 67–80.
- Rocha, C., Calado, R., Borrego, P., Marcelino, J. M., B  rtolo, I., Rosado, L., ... Taveira, N. (2013). Evolution of the human immunodeficiency virus type 2 envelope in the first years of infection is associated with the dynamics of the neutralizing antibody response. *Retrovirology*, 10, 110.
- Rodriguez, S. K., Sarr, A. D., MacNeil, A., Thakore-Meloni, S., Gueye-Ndiaye, A., Traor  , I., ... Kanki, P. J. (2007). Comparison of heterologous neutralizing antibody responses of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)- and HIV-2-infected Senegalese patients: distinct patterns of breadth and magnitude distinguish HIV-1 and HIV-2 infections. *Journal of Virology*, 81(10), 5331–8.
- Rowland-Jones, S. (2006). Protective immunity against HIV infection: lessons from HIV-2 infection. *Future Microbiology*, 1(4), 427–33.
- Rucevic, M., Boucau, J., Dinter, J., Kourjian, G., & Gall, S. (2014). Mechanisms of HIV Protein Degradation into Epitopes: Implications for Vaccine Design. *Viruses*, 6(8), 3271–3292.

- Şahin, G. Ö., Månsson, F., Palm, A., Vincic, E., Silva, Z. da, Medstrand, P., ... Jansson, M. (2012). Frequent intratype neutralization by plasma immunoglobulin A identified in HIV-2 infection. *AIDS*, 1–31.
- Schmidt, W. P., Van Der Loeff, M. S., Aaby, P., Whittle, H., Bakker, R., Buckner, M., ... White, R. G. (2008). Behaviour change and competitive exclusion can explain the diverging HIV-1 and HIV-2 prevalence trends in Guinea-Bissau. *Epidemiology and Infection*, 136(4), 551–61.
- Schramm, B., Penn, M. L., Palacios, E. H., Grant, R. M., Kirchhoff, F., & Goldsmith, M. a. (2000). Cytopathicity of human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) in human lymphoid tissue is coreceptor dependent and comparable to that of HIV-1. *Journal of Virology*, 74(20), 9594–600.
- Sharp, P. M., & Hahn, B. H. (2011). Origins of HIV and the AIDS pandemic. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 1(1), a006841.
- Shi, Y., Brandin, E., Vincic, E., Jansson, M., Blaxhult, A., Gyllensten, K., ... Albert, J. (2005). Evolution of human immunodeficiency virus type 2 coreceptor usage, autologous neutralization, envelope sequence and glycosylation. *The Journal of General Virology*, 86(Pt 12), 3385–96.
- Smith, P. L., Tanner, H., & Dalgleish, A. (2014). Developments in HIV-1 immunotherapy and therapeutic vaccination. *F1000prime Reports*, 6(June), 43.
- Soares, R., Foxall, R., Albuquerque, A., Cortesão, C., Garcia, M., Victorino, R. M. M., & Sousa, A. E. (2006). Increased frequency of circulating CCR5+ CD4+ T cells in human immunodeficiency virus type 2 infection. *Journal of Virology*, 80(24), 12425–9.
- Sourial, S., & Nilsson, C. (2008). HIV-2 neutralization by intact V3-specific Fab fragments. *Virology Journal*, 5, 96.
- Sousa, A. E., Carneiro, J., Meier-Schellersheim, M., Grossman, Z., & Victorino, R. M. M. (2002). CD4 T cell depletion is linked directly to immune activation in the

- pathogenesis of HIV-1 and HIV-2 but only indirectly to the viral load. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 169(6), 3400–6.
- Steckbeck, J. D., Kuhlmann, A.-S., & Montelaro, R. C. (2013). C-terminal tail of human immunodeficiency virus gp41: functionally rich and structurally enigmatic. *The Journal of General Virology*, 94(Pt 1), 1–19.
- Su, B., & Moog, C. (2014). Which Antibody Functions are Important for an HIV Vaccine? *Frontiers in Immunology*, 5(June), 289.
- Tan, J. J., Cong, X. J., Hu, L. M., Wang, C. X., Jia, L., & Liang, X.-J. (2010). NIH Public Access, 15, 186–197.
- Taveira, N., Borrego, P., & Bártolo, I. (2011). Biologia molecular de VIH. Em F. Antunes (Ed.), *Manual sobre sida* (pp. 31–52). Lisboa, Portugal: Permanyer Portugal.
- Taveira, N., & Ferreira, M. O. (2011). Diversidade genética de VIH. Em F. Antunes (Ed.), *Manual sobre sida* (pp. 3–12). Lisboa, Portugal: Permanyer Portugal.
- Tendeiro, R., Albuquerque, A. S., Russell, B., Cavaleiro, R., Soares, R. S., Soares, M. V. D., & Sousa, A. E. (2013). Preserved CD4 T-cell telomere length during longlasting HIV-2 infection. *AIDS*, 27, 289–292.
- Tendeiro, R., Fernandes, S., Foxall, R. B., Marcelino, J. M., Taveira, N., Soares, R. S., ... Sousa, A. E. (2012). Memory B-cell depletion is a feature of HIV-2 infection even in the absence of detectable viremia. *AIDS (London, England)*, 26(13), 1607–17.
- Tendeiro, R., Foxall, R. B., Baptista, A. P., Pinto, F., Soares, R. S., Cavaleiro, R., ... Sousa, A. E. (2012). PD-1 and its ligand PD-L1 are progressively up-regulated on CD4 and CD8 T-cells in HIV-2 infection irrespective of the presence of viremia. *AIDS (London, England)*, 26(9), 1065–71.
- Thiébaud, R., Charpentier, C., Damond, F., Taieb, A., Antoine, R., Capeau, J., ... Brun-Vézinet, F. (2012). Association of soluble CD14 and inflammatory biomarkers with HIV-2 disease progression. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 55(10), 1417–25.

- Trinité, B., Ohlson, E. C., Voznesensky, I., Rana, S. P., Chan, C. N., Mahajan, S., ... Levy, D. N. (2013). An HIV-1 replication pathway utilizing reverse transcription products that fail to integrate. *Journal of Virology*, 87(23), 12701–20.
- Tuero, I., & Robert-Guroff, M. (2014). Challenges in mucosal HIV vaccine development: lessons from non-human primate models. *Viruses*, 6(8), 3129–58.
- Tyagi, M., & Kashanchi, F. (2012). New and novel intrinsic host repressive factors against HIV-1: PAF1 complex, HERC5 and others. *Retrovirology*, 9(1), 19.
- Uchtenhagen, H., Friemann, R., Raszewski, G., Spetz, A.-L., Nilsson, L., & Achour, A. (2011). Crystal structure of the HIV-2 neutralizing Fab fragment 7C8 with high specificity to the V3 region of gp125. *PloS One*, 6(4), e18767.
- UNAIDS. (2013). Global summary of the AIDS epidemic 2012, (September).
- UNAIDS. (2014a). Gap Report Epidemiology Slides, (July).
- UNAIDS. (2014b). UNAIDS report shows that 19 million of the 35 million people living with HIV today do not know that they have the virus, 2013–2016.
- Valadas, E. (2011). Espectro clínico da infecção por VIH. Em F. Antunes (Ed.), *Manual sobre sida* (pp. 131–137). Lisboa, Portugal: Permanyer Portugal.
- Valadas, E., França, L., Sousa, S., & Antunes, F. (2009). 20 Years of HIV-2 Infection in Portugal: Trends and Changes in Epidemiology. *Clinical Infectious Diseases*, 48(8), 1166–1166.
- Van der Loeff, M. F. S., Awasana, A. A., Sarge-Njie, R., van der Sande, M., Jaye, A., Sabally, S., ... Whittle, H. C. (2006). Sixteen years of HIV surveillance in a West African research clinic reveals divergent epidemic trends of HIV-1 and HIV-2. *International Journal of Epidemiology*, 35(5), 1322–8.
- Voronin, Y., & Phogat, S. (2010). HIV/AIDS: vaccines and alternate strategies for treatment and prevention. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1205 Suppl, E1–9.

- Weber, C., Müller, C., Podszuweit, A., Montino, C., Vollmer, J., & Forsbach, A. (2012). Toll-like receptor (TLR) 3 immune modulation by unformulated small interfering RNA or DNA and the role of CD14 (in TLR-mediated effects). *Immunology*, 136(1), 64–77.
- Yan, N., & Lieberman, J. (2011). Gaining a foothold: how HIV avoids innate immune recognition. *Current Opinion in Immunology*, 23(1), 21–8.
- Yindom, L.-M., Leligidowicz, A., Martin, M. P., Gao, X., Qi, Y., Zaman, S. M. a, ... Carrington, M. (2010). Influence of HLA class I and HLA-KIR compound genotypes on HIV-2 infection and markers of disease progression in a Manjako community in West Africa. *Journal of Virology*, 84(16), 8202–8.
- Zhang, Y., Yuan, T., Li, J., Zhang, Y., Xu, J., Shao, Y., ... Zhang, M.-Y. (2013). The potential of the human immune system to develop broadly neutralizing HIV-1 antibodies: implications for vaccine development. *AIDS (London, England)*, 27(16), 2529–39.